PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

03-139288

(43)Date of publication of application: 13.06.1991

(51)Int.Cl.

C12P 19/18 A23L 1/03 A23L 2/00 A61K 7/00 A61K 31/71 CO7H 15/26 C12P 19/20

(21)Application number : **01-274518**

(71)Applicant: HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC

YAMAMOTO ITARU

(22)Date of filing:

20.10.1989

(72)Inventor: YAMAMOTO ITARU

MUTO TOKUO MIYAKE TOSHIO

(30)Priority

Priority number: 01127072

Priority date: 19.05.1989

Priority country: JP

(54) ALPHA-GLYCOSYL-L-ASCORBIC ACID, ITS PRODUCTION AND USE THEREOF (57)Abstract:

PURPOSE: To obtain α -glucosyl-L-ascorbic acid not showing the direct reducing properties by treating a solution containing L-ascorbic acid and α -glucosyl saccharide compound with glycosyltransferase.

CONSTITUTION: A solution containing L-ascorbic acid and α -glucosyl saccharide compound is treated with glycosyltransferase to form α -glucosyl-L-ascorbic acid not showing the direct reducing properties. Then the enzyme is deactivated by heating the reaction solution, the solution is filtered, concentrated into a syrup state or dried to prepare the powder containing α -glucosyl-L-ascorbic acid. Cyclomaltodextrin glucanotransferase (EC2.4.1.19), α 'glucosidase (EC3.2.1.20), etc., are preferable as the glycosyltransferase.

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪特許出願公開

® 公 開 特 許 公 報 (A) 平3-139288

®Int. Cl.⁵	識別記号	庁内整理番号	@公開	平成3年(1991)6月13日
C 12 P 19/18 A 23 L 1/03 2/00	E.	8214-4B 6977-4B 6977-4B		
A 61 K 7/00	D X	9051-4C 9051-4C 9051-4C		
31/71 C 07 H 15/26 C 12 P 19/20	ADK	7431-4C 7822-4C 8214-4B		
	′	審査請求	未請求 請	青求項の数 12 (全16頁)

69発明の名称

αーグリコシルーLーアスコルビン酸とその製造方法並びに用途

②特 願 平1-274518

②出 願 平1(1989)10月20日

優先権主張

翌平1(1989)5月19日39日本(JP)39特願 平1-127072

 個発
 明
 者

 個発
 明
 者

 岡山県岡山市花尻ききよう町1番地の102

 ⑩発明者 武藤 徳男

 ⑩発明者 三宅 俊雄

Ш

岡山県岡山市津島中1丁目3番RB-402号

 図発 明 者
 三 宅
 俊 雄

 ①出 願 人
 株式会社林原生物化学

岡山県岡山市奥田1丁目7番10-403号

林式云红林原王彻记子

岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

研究所

勿出 願 人 山 本

格

岡山県岡山市花尻ききよう町1番地の102

明 細 審

1. 発明の名称

αーグリコシルーLーアスコルビン酸とその製 造方法並びに用途

2. 待許請求の範囲

- 直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸。
- (2) Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に糖転移酵素を作用させ、直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸を生成せしめ、これを採取することを特徴とする直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸の製造方法。
- (3) 糖転移酵素がシクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼ (EC 2.4.1.19) または αーグルコシダーゼ (EC 3.2.1.20) であることを特徴とする特許請求の範囲第 (2) 項記載の直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸の製造方法。
- (4) 直接還元性を示さない αーグリコシルーLーア

スコルビン酸を含有せしめた飲食物。

- (5) 直接還元性を示さない αーグリコシルーLーア スコルビン酸を有効成分として含有せしめた抗 感受性疾患剤。
- (6) 直接還元性を示さない αーグリコシルーLーア スコルビン酸を有効成分として含有せしめた化 粧品。
- (7) 2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルピン 酸。
- (8) Lーアスコルビン酸と αーグルコシル 糖化合物 とを含有する溶液に 糖転移酵素 または 糖転移酵素 とグルコアミラーゼ (EC 3.2.1.3) とを作用させ、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸を生成せしめ、これを 採取することを 特徴とする2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸の製造方法。
- (9) 糖転移酵素がシクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼ (EC 2.4.1.19) またはαーグルコシダーゼ (EC 3.2.1.20) であることを特徴とする特許請求の範囲第 (8) 項記載の2-

0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸の製造方法。

- (10) 2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルピン 酸を含有せしめた飲食物。
- (11) 2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸を有効成分として含有せしめた抗感受性疾患剤。
- (12) 2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン 酸を有効成分として含有せしめた化粧品。

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明は、直接還元性を示さない α - グリコシルーLーアスコルビン酸とその製造方法並びに用途に関し、更に詳細には、新規物質である直接運元性を示さない α - グリコシルーLーアスコルビン酸を含有せしめた飲料、加工食品、嗜好物などの飲食物、感受性疾患の予防剤、色角剤すなわち抗感受性疾患剤および美肌剤、色白剤

には、白血球増加による免疫増強作用に関与するなどが知られており、生体の健康維持、増進に重要な役割をなしている。壊血病は、Lーアスコルビン酸の欠乏症として古くから知られ、皮膚の虚弱化、点状出血、斑状出血、歯肉や骨髄下出血などを呈する。これを予防し、健康を維持するために、Lーアスコルビン酸の維奨1日所要量(RDA)が定められ、それによれば役国では、成人男子60mg、成人女子50mgとされている。

しーアスコルビン酸の用途は、単に必須栄養素としてのビタミンC強化剤にとどまらず、その化学構造、生理作用から、例えば、酸味剤、還元剤化学酸化防止剤、濃白剤、安定剤などとして各種化疾患の形式は、飲食物などに、また、ウイルス生態の反応基材、飲食物などに、また、ウイルスを見いる。 知菌性疾患、悪性腫瘍など感受性疾患の予防、適分、素外線吸収剤、メラニン生成抑制剤などのののが、対対ないののでは、その範囲は極めて広い。

レーアスコルビン酸の最大の欠点は、それが直接

などの化粧品に関する。
「従来の技術」

しーアスコルビン酸は、

式[1]:

で示される化学構造を有しており、ヒト、サル、 モルモットにとっては、生体内で合成できず、必 須栄養素ビタミンCとなっている。

Lーアスコルビン酸は、生体内で、例えば、生体 結合組織の主成分であるコラーゲンの合成に必要 なプロリンやリジンのヒドロキシル化反応に関与 し、また、例えば、チトクロームCのFe***を還元 してFe**にするなどの酸化還元反応に関与し、更

還元性を示すため、極めて不安定で、酸化分解を 受け易く、容易にその生理活性を失うことである。

Lーアスコルビン酸を安定化させる方法として、Lーアスコルビン酸の糖誘導体が提案されている。例えば、先に本発明者等が、「ビタミン」第43巻、第205万至209頁(1971年)、「ビタミン」第47巻、第259万至267頁(1973年)および特公昭48-38158号公報で、生化学的手法によるLーアスコルビン酸グルコシドの合成法を開示している。

しかしながら、これらのアスコルビン酸グルコシドは、いずれも同様の方法で調製され、得られたアスコルビン酸については、例えば、該公報第2^で 研第14乃至16行で、「得た誘導体はアスコルビン酸の6番の炭素の第1アルコール基がエーテル結合によりグルコシドを形成したもの」と記載され、また、 その生成がマルトースからαーグルコシル 基の機転移反応であること、更には、直接還元性を示す性質を有するなどから、その化学構造が、

式[11]:

で示されるものであると考えられ、その安定化の程度についても、該公報実施例1の表の結果から明らかなように、Lーアスコルビン酸よりは優れているものの、なお不安定であり、未だ実用化されるに至っていない。

また、石戸等が特公昭58-5920号公報で、有機化学的手法によるLーアスコルピン酸糖誘導体の合成法を開示している。

しかしながら、このアスコルビン酸糖誘導体は、 該公報第7個第6行乃至第8個第11行で、2.3-ジー

ン酸糖誘導体の提案は、安定性、安全性、生理活性、 経済性などの点で、いずれも不充分であり、 その実現を見るに至っていない。

[発明が解決しようとする課題]

従来のLーアスコルビン酸糖誘導体の欠点を解消し、安定性に優れ、生体内でLーアスコルビン酸の生理活性を充分発揮し、しかも無悪で安心して利用できるLーアスコルビン酸糖誘導体の実現が強く望まれている。

[課題を解決するための手段]

本発明は、従来のL-アスコルビン酸糖誘導体の 欠点を解消するためになされたものであって、と りわけ、生化学的手法による糖転移反応を利用し、 新しいL-アスコルビン酸糖誘導体を目指して鋭意 研究を続けてきた。

その結果、直接選元性を示さず、安定性に優れ、 しかも生体内で容易に加水分解され、生理活性の 点でも申し分のない新規Lーアスコルピン酸糖誘導 体を見出し、更に、その製造方法並びに飲食物、 抗感受性疾患剤、化粧品などへの用途を確立して 0- (β-D-グルコピラノシル) -L-アスコルピン酸など21種類ものβ-D-グルコピラノシル型のL-アスコルピン酸糖誘導体を掲げて説明していることからも明らかなように、すべてのD-グルコースがβ結合しているL-アスコルピン酸糖誘導体である。

また、政本等が特開昭58-198498号公報で有機化学的手法によるL-アスコルピン酸糖誘導体の合成法を関示しているが、これもβ-グルコシル型のL-アスコルピン酸糖誘導体である。

また、これら月 - D - グルコピラノシル型のL - アスコルピン酸糖誘導体について、本発明者がで、体討したところ、生体、とりわけ、ヒトにおいて、生理活性を充分発揮させることの困難なこと合成で、更に、その有機化学的手法による合成は、反応が複雑で収率も低く、それ故に、安全はが劣り、加えて、その誘導体の無鑑性、安全を確保する上において、相当の困難が伴う欠点のあることも判明した。

叙上のように、従来知られているレー アスコルビ

本発明を完成した。

また、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸が、Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物とを経口摂取することにより、生体内で生成され、代謝される物質であることが判明したことにより、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸は、本来、生体物質であり、安全性の上からも理想的なLーアスコルビン酸の新規糖誘導体と言うことができる。

ちなみに、有機化学的手法によって合成される β-D-グルコシル型のL-アスコルビン酸糖誘導体は、生体内で生成されず、従って、生体にとっては異物と考えられる。

本発明のαーグリコシルー6ーアスコルビン酸は その製法を問わず、生化学的手法による製法であっ ても、有機化学的手法による製法であってもよい。

しかし、一般的には、安全性、経済性の上から、 Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物とを 含有する溶液に糖転移酵素を作用させる生化学的 手法により生成させるのが望ましい。 本明細費でいう直接選元性を示さないとは、Lー アスコルビン酸の場合とは違って、そのままで、2, 6-ジクロルフェノールインドフェノールを選元脱 色しないことを意味する。

本明細書でいうLーアスコルピン酸とは、特に不都合が生じない限り、遊離のLーアスコルピン酸のみならず、Lーアスコルピン酸のアルカリ金属塩若しくはアルカリ土類金属塩などのLーアスコルピン酸塩、または、それらの混合物を意味する。従って、本発明の糖転移反応に用いるLーアスコルピン酸としては、通常、遊離のLーアスコルピン酸だけでなく、必要に応じて、Lーアスコルピン酸ナトリウム、Lーアスコルピン酸カルシウムなどが適宜用いられる。

また同様に、本明細書でいうαーグリコシルーLーアスコルピン酸、2-0-α-D-グルコシルーLーアスコルピン酸などについても、特に不都合が生じない限り、遊離の酸のみならず、それらの塩をも意味する。

本発明で用いるαーグルコシル糖化合物は、同

時に用いる雑転移酵素によってLーアスコルビンとから直接選元性を示さない αーグリコシルーLーアスコルビン酸を生成できるものであればよく、例えば、マルトース、マルトトリオース、マルトオウタオース、マルトオウタオース、マルトオリゴ糖、デキストリン、アミロースなどのマルトオリゴ糖、デキストリン、アミロースなどの酸粉部分のであればできる。

従って、αーグリコシルーLーアスコルビン酸の 生成を容易にするためには、搪転移酵素に好適な αーグルコシル糖化合物が選ばれる。

例えば、糖転移酵素として、αーグルコシダーゼ (EC 3.2.1.20) を用いる際には、マルトース、マルトトリオース、マルト チトラオース、マルトペンタオース、マルトペキサオース、マルトペブタオース、マルトオクタオースなどのマルトオリゴ糖、または、DE約5乃至60のデキストリン、政粉部分加水分解物などが好適であり、シクロマルト

デキストリン・グルカノトランスフェラーゼ (EC 2.4.1.19) を用いる際には、シクロデキストリンまたはDE1未満の澱粉 糊化物からDE約80のデギストリンまでの澱粉部分加水分解物などが好適であり、αーアミラーゼ (EC 3.2.1.1) を用いる際には、DE1未満の期化澱粉からDE約30のデキストリンまでの澱粉部分加水分解物などが好適である。

反応時のLーアスコルビン酸の濃度は、通常、1 V/V X 以上、望ましくは、約2万至30 V/V X 含有しておればよく、αーグルコシル糖化合物の濃度は、Lーアスコルビン酸に対して、通常、約0.5万至30倍の範囲が好適である。

本発明に用いる糖転移酵素は、Lーアスコルビン酸とこの酵素に好適な αーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に作用させる時、Lーアスコルビン酸を分解せずに、Lーアスコルビン酸の少なくとも2位の炭素のアルコール歴に αーグルコシル 恋を1乃至数個転移して αーグリコシルーLーアスコルビン酸を生成するものであればよい。

例えば、αーグルコシダーゼは、マウスの腎臓、

ラットの陽粘膜、イヌ、ブタの小腸など動物由来の酵素、コメ種子、トウモロコシ種子など植物由来の酵素、更には、ムコール(Mucor)属、ペニシリウム(Penicillium)属などに属するカビ、またはサッカロミセス(Saccharomyces)属などに属する静母などの微生物を栄養培地で培養し得られる培養物由来の酵素が、シクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼは、パチルス(Bacillus)属、クレブシーラ(Klebsiella)属などに属する細菌培養物由来の酵素が、αーアミラーゼは、パチルス属などに属する細菌培養物由来の酵素などが適宜選択できる。

これらの搪転移酵素は、前記の条件を満足しさ えすれば、必ずしも精製して使用する必要はなく、 通常は、粗酵素で本発明の目的を達成することが できる。必要ならば、公知の各種方法で精製して 使用してもよい。また、市販の搪転移酵素を利用 することもできる。使用酵素量と反応時間とは、 密接な関係があり、通常は、経済性の点から約3万 至80時間で反応を終了するように酵素量が遊ばれ 5 .

また、固定化された糖転移酵素をパッチ式で繰り返し、または連続式で反応に利用することも有利に実施できる。

本発明の反応方法は、通常、前述のLーアスコルルとで、通常、前述のLーアスコルルを含有するるで、通常ないが、通常、pH約3万至8、温度約30万至80℃ので、通ばれる条件に維持して行う。また、反反応でし、ののでは強気または選元状態で遮光下に維持してきるだけ嫌気または選元状態で遮光下に維持であるが望ましく、必要ならば、チオ尿素、亜硫酸塩などを共存させて反応させることも有利に実施できる。

また、必要ならば、糖転移反応能を有する微生物の増殖中に、Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物とを共存させて、その目的物質を生成させることも有利に実施できる。

本発明の直接還元性を示さない αーグリコシルー Lーアスコルビン顔について述べると、Lーアスコ

フェラーゼやαーアミラーゼによって生成させる 場合には、一般に、ローグルコシダーゼの場合よ りもα-D-グルコシル基の結合数の大きいものま で混在生成させることができ、使用するαーダル コシル糖化合物によっても変動するが、一般的に は、シクロマルトデキストリン・グルカノトラン スフェラーゼの場合には、αーBーグルコシル基の 数が1乃至7程度まで分布し、αーアミラーゼの場 合には、これよりその分布がやや狭い程度である。 このような混合物である生成物を、必要によって、 α - \mathcal{P} \leq \mathcal{P} - \mathcal{P} \leq \mathcal{P} \leq \mathcal{P} - \mathcal{P} \leq \mathcal{P} - \mathcal{P} (EC 3.2.1.2) 、グルコアミラーゼ (EC 3.2.1.3) などによって、部分加水分解し、そのαーDーグル コシル基の数を低減させることができる。例えば、 グルコアミラーゼを作用させる場合には、2-0α-D-マルトシルーL-アスコルビン酸以上の高 分子物を加水分解し、2-0-a-D-グルコシルー iーアスコルビン酸を蓄積生成させることができ、

また、βーアミラーゼを作用させる場合には、主

に、2-0-α-D-マルトテトラオシル-L-アス

ルビン酸の少なくとも2位の炭素のアルコール基に α-D-グルコシル基が結合し、その結合数は、1 乃至7個程度のグルコシル基がα-1,4結合してお り、その個々の物質としては、例えば、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルピン酸、2-0-α-D-マルトシルーLーアスコルピン酸、2-0-α-D-マルトトリオシルーL-アスコルピン酸、2-0-α-D-マルトテトラオシルーL-アスコルピン酸、2-0-α-D-マルトペンタオシル-L-アスコルピン 酸、2-0-α-D-マルトヘキサオシル-L-アス コルビン酸、2-0-α-D-マルトヘブタオシル-Lーアスコルピン酸などである。α-グルコシダー ゼによって生成させる場合には、通常、2-0-α-DーグルコシルーLーアスコルビン酸だけを生成さ せることができるし、必要により、2-0-α-D-グルコシルーLーアスコルヒン酸に、2-0-a-D-マルトシルーLーアスコルピン酸、2-0-α-D-マルトトリオシルーLーアスコルピン酸などを混在 して生成させることもできる。

シクロマルトデキストリン・グルカノトランス

コルビン酸以上の高分子物を加水分解し、2-0-α-D-グルコシル+L-アスコルビン酸、2-0-α-D-マルトシル-L-アスコルビン酸および2-0-α-D-マルトトリオシル-L-アスコルビン酸の混合物を蓄積生成させることができる。

更に、精製されたαーグリコシルーLーアスコルビン酸製品を製造する場合には、αーグリコシルーLーアスコルビン酸と夫反応のLーアスコルビン酸、Dーグルコース、αーグルコシル糖化合物など夾雑

物との分子量、親和性などの違いを利用する分離 手段、例えば、膜分離、カラムクロマトグラ フィー、高速液体クロマトグラフィー、ゲル濾過 クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラ フィーなどの方法で分離精製すれば、高純度の製 品を得ることも容易に達成することができる。こ の際、分離されるレーアスコルビン酸、αーグルコ シル糖化合物などを、再度、糖転移反応の原料と して用いることも有利に実施できる。また、糖転 移反応終了後、クロマトグラフィーなどの分離手 段にかけるまでの間に、必要ならば、何えば、反 応液を加熱して生じる不溶物を濾過して除去した り、活性炭などで処理して反応液中の蛋白性物質、 着色物質などを吸着除去したり、陽イオン交換倒 脂(H型)で脱ミネラルしたり、陰イオン交換樹脂 (OH型) に吸着させ、アニオン若しくは塩類溶液 などで脱着処理するなどの精製法を組合せて利用 することも随意である。

このようにして得られるα-グリコシルーL-ア スコルビン酸は次の特長を有している。

でき、また、糖類を除去した精製製品の場合には、賦形、増量効果は低いものの、少量で a ーグリコシルーLーアスコルビン酸本来の効果を発揮することができる。

これらの特長から、直接還元性を示さない。αーグリコシルーLーアスコルピン酸は、安定性、安全性の高い天然型のピタミンC強化剤としてばかりでなく、星味改善剤、酸味剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、嗜好物、また、ウイルス性疾患、細菌性疾患、悪性腰瘍など感受性疾患の予防剤、治療剤、更には、関係など感受性疾患の予防剤、治療剤、更には、関ましくは、0.0011///*以上配合して有利に利用できる。

また、αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、酸味、塩から味、渋味、旨味、苦味などの足味を有する各種物質ともよく調和し、耐酸性、耐熱性も大きいので、普通一般の飲食物、嗜好物、例えば、醬油、粉末醬油、味噌、粉末味噌、もろみ、ひしお、フリカケ、マヨネーズ、ドレッシング、

- (1) 直接還元性を示さず、きわめて安定である。 Lーアスコルピン酸とは違って、メイラード反応 を起こしにくい。従って、アミノ酸、ペプチド、 蛋白質、脂質、糖質、生理活性物質などと共存 しても無用の反応を起さず、むしろ、これら物 質を安定化する。
- (2) 加水分解を受けてLーアスコルビン酸を生成し、Lーアスコルビン酸と同様の還元作用、抗酸化作用を示す。
- (3) 体内の酵素により、L-アスコルビン酸とD-グルコースとに容易に加水分解され、L-アスコ ルビン酸本来の生理活性を示す。
- (4) Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物などとを経口摂取することにより、生体内で生成され、代謝される物質であることから、その安全性は衝めて高い。
- (5) α グルコシル糖化合物などの糖類を含有する製品の場合には、α グリコシルーL アスコルピン酸の効果を発揮するのみならず、糖類が賦形、増量効果や、甘味効果を発揮することが

食酢、三杯酢、粉末すし酢、中華の素、天つゆ、 麺つゆ、ソース、ケチャップ、焼肉のタレ、カレー ルウ、シチューの素、スープの素、ダシの素、複 合調味料、みりん、新みりん、テーブルシュガー、 コーヒーシュガーなどの各種調味料、せんべい、 あられ、おこし、*カリントウ、求肥、併類、まん じゅう、ういろう、あん類、羊羹、水羊羹、錦玉、 ゼリー、カステラ、飴玉などの各種和菓子、パン、 ピスケット、クラッカー、クッキー、パイ、ブリ ン、シュークリーム、ワッフル、スポンジケーキ、 ドーナツ、チョコレート、チューインガム、キャ ラメル、キャンデーなどの各種洋菓子、アイスク リーム、シャーペットなどの氷菓、果実のシロッ プ漬、氷霰などのシロップ類、パタークリーム、 カスタードクリーム、フラワーペースト、ピーナッ ツベースト、フルーツベーストなどのスプレッド、 ペースト類、ジャム、マーマレード、シロップ活、 糖果などの果実、野菜の加工食品類、パン類、煙 類、米飯類、人造肉などの穀類加工食品類、サラ ダオイル、マーガリンなどの油脂食品類、福神漬、

べったら漬、干枚漬、らっきょう漬などの漬物類、 たくあん漬の素、白菜漬の素などの漬物の素類、 ハム、ソーセージなどの畜肉製品類、魚肉ハム、 魚肉ソーセージ、カマポコ、チクワ、ハンペンな どの魚肉製品、ウニ、イカの塩辛、酢コンプ、さ きするめ、ふぐのみりん干しなどの各種珍味類、 のり、山菜、するめ、小魚、貝などで製造される つくだ煮類、煮豆、ポテトサラダ、コンプ巻、天 **みらなどのそう菜食品、錦糸卵、乳飲料、パター、** チーズなどの卵、乳製品、魚肉、畜肉、果実、野 菜などのピン詰、缶詰類、合成酒、増醸酒、果実 酒、洋酒などの酒類、コーヒー、ココア、ジュー ス、炭酸飲料、乳酸飲料、乳酸菌飲料などの清涼 飲料水、ブリンミックス、ホットケーキミックス、 即席ジュース、即席コーヒー、即席しるこ、即席 スープなど即席飲食品などに、ビタミンC強化剤、 呈味 改 善剂、 酸味 剂、 品質 改 良 剂、 安 定 剂 、 抗 酸 化剤などの目的で有利に利用することができる。 また、家畜、家禽、蜜蜂、蛋、魚などの飼育動物 のための飼料、餌料などにビタミンC強化剤、星味

改善剤、抗酸化剤、嗜好性向上などの目的で配合 して利用することも好都合である。

また、本発明でいう感受性疾患とは、αーグリコシルーLーアスコルピン顔によって予防され若しくは治療される疾患であり、それが、例えばウィルス性疾患、細菌性疾患、外傷性疾患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿病、白内障、悪性腫瘍など

であってもよい。 αーグリコシルーLーアスコルビン酸感受性疾患の予防剤若しくは治療剤、 その目的に応じてその形状を自由に選択で新え、 値射剤などの破剤、 数質、 はっぷ剤、 クリーム の 線剤などの 放剤、 数剤、 カブセル剤、 ない 利力な との固剤などである。 製剤に当たっては、 必要 で で の 成分、 例えば、治療剤、 生理活性効剤、 増量剤、 安定剤、 着色剤、 増量剤、 増量剤、 安定剤、 着色 和 などの1種若しくは2種以上と併用することも 随意である。

投与量は、含量、投与経路、投与頻度などによって適宜調節することができる。 選常、成人1日当り、約0.001万至100グラムの範囲が好適である。

また、化粧品の場合も、大体、前述の予防剤、 治療剤に準じて利用することができる。

αーグリコシルーLーアスコルビン酸を含有せしめる方法としては、それらの製品が完成するまでの工程で、例えば、混和、混捏、溶解、浸渍、散布、塗布、噴霧、注入など公知の方法が適宜選ば

れる。

また、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビアスコル・ロークルコシルーLーアスコルートでは、または、2-0-αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸が、遊離の酸の場合には、必溶液で、2-0-αーDーグルコピラノシルーLーアスコルビン酸の塩、例えば、ナトリウム塩、では、サール・ロークルコピランの塩、例えば、サール・ロークルコピランの塩、のは、サール・ロークルコルビンの塩、のよば、サール・ロークルコルビン酸の塩、例えば、サール・ロークム塩、マグネシウム塩、鉄塩、銅塩、亜鉛、サールとを併せ持つ物質を調製し、これを発生、水のできる。

以下、本発明の直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸の代表例を実験を用いて詳細に説明する。

実験 1 αーグルコシダーゼ標品

ラットの小腸を0.1Mリン酸塩緩衝液 (pH7.0) に20W/W%になるように加え、これをホモゲナイザーで均買化し、遠心分離 (4.000×g、10分間) し、この上渡にメルク社製トリプシンを終末濃度0.1g/L

になるよう加えて室温下で4時間維持し、次いで冷エタノールを2倍容加え、遠心分離し、この沈殿を0.01Nリン酸塩緩衝液(pH7.0)に溶かして、半透膜に入れ、同級衡液に対して15時間透析した。

その後、常法に従って、DEAEーセルロースカラムクロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトカラムクロマトグラフィーにかけ、αーグルコシダーゼ活性画分を採取し、これを凍結乾燥したものをαーグルコシダーゼ標品とした。

本品は比活性60.6(単位/mg蛋白質)で、精製倍率460倍、活性収率約47%であった。

ここでいう活性1単位とは、1.35mM EDTAを含む
0.1H酢酸塩緩衝液(pH6.0)750μLと4V/VXマルトース250μLとの混液に、適当に希釈した酵素液100μ
Lを加え、37℃で30分間反応させた後、沸騰水に3分間保って反応を停止させ、これを遠心分離し、その上清20μLを採り、これに発色試薬(グルコースオキシダーゼ法、和光純薬社製、商品名グルコースBテスト)1mLを加えて、37℃に20分間保って発色させ、次いで505mmにおける吸光度を例定

高含有画分を採取し、次いで島津製作所社製造のカラム(商品名Shin-pack ODS)を用いて、0.3V/VX酢酸を溶出液として高速液体クロマトグラフィーを行ない、αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸高含有画分を採取し、減圧最縮し、凍結乾燥し粉末化して、純度99.9%の高純度αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸に対して、収率約80V/VXで得た。

(3) 理化学的性質

本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸の 代表例として、(2) で調製した高純度αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸標品を用いて、次に示す理化学的性質を調べた。

なお、 $\alpha-D-グルコシルーL-アスコルピン酸$ $よりも<math>\alpha-D-グルコシル差の数の大きいものの例$ $として、実施例A-1の方法で得た<math>\alpha-D-グリコシ$ ルーL-アスコルピン酸を用いて、できるだけ調べ、 その性質をカッコ内[}に示した。

・元素分析:C12H1eO11として

する条件で、37℃、1分間に1μmoleのグルコースを遊離する酵素量をいう。

実験 2 α – D – グルコシル – L – アスコルビン酸 (1) 搪 転移反応

Lーアスコルビン酸7.04重量部、マルトース12.8重量部およびチオ尿素0.2重量部を0.2M酢酸緩衝液(pH5.3)100重量部に溶解し、更に、実験1の方法で調製した部分精製αーグルコシダーゼ標品をマルトースグラム当り0.5単位加え、遮光下、50℃で5時間反応させた。次いで、4倍容の1.06V/V*メタリン酸溶液を加え酵素を失活させて反応を停止した。

本品を高速液体クロマトグラフィーで測定したところ、反応に用いたLーアスコルビン酸の約30%が擴張媒体に変換していた。

(2) 精製

(1) の反応停止液を、Bio-Rad社製造のゲル 濾過剤(商品名Bio-Gel P-2)を用いて、水を溶 出液としてゲル濾過クロマトグラフィーを行な い、α-D-グルコシルーL-アスコルピン酸の

理論値C=42.8% H=5.36% 実例値C=42.3% H=5.38% N<0.01%

- ・分子量:質量分析装置 (日立製作所製、M 80B) を用いてFDマススペクトルを測定した結果、 (M+H)*(Ct2HteOti HV=338) として339が設測された。
- ・ 紫外線吸収スペクトル:pH7.0で260nmに、pH2.0 で238nmに吸収極大を示す。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

・赤外線吸収スペクトル:KBr 錠剤法で測定した。 結果は、図に示す。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

・NMR:NMR測定装置(日本電子製、JNH - GX400) を用いて測定した。

測定溶媒は重水を用い、測定時の溶液のpliは2. 8であった。

内部標準としてTSP (sodium 3-'trimethyl-s ilylproplomate-2, 2, 3, 3-d4) を用いた。 'H-NHR δppm (D20) 3.50 (1H, dd, J = 9.5, J = 9.7 Hz)

3.56 (1H, dd, J = 3.4, J = 9.5 Hz)

3.75 (2H, d, J = 6.4 Hz)

3.78 (2H, d, J = 3.0 Hz)

3.86 (1H. dd, J = 9.5, J = 9.5 Hz)

4.02 (1H, dt, J = 9.7, J = 3.0 Hz)

4.08 (1H, td, J=6.4, J=1.5 Hz)

4.91 (1H. d, J = 1.5 Hz)

5.52 (1H, d, J = 3.4 Hz)

·解離定数:pKa=3.0

この値を、ゼイ・ゼルノウ(J.Jernow)等、テトラヘドロン(Tetrahedron)第35巻、第1483乃至1486頁(1979年)の第1表およびパオーウェン・ルー(Pao-Wen Lu)等、ジャーナル・アグリカルチュラル・フード・ケミストリー(Journal of Agricultural Food Chemistry)第32巻、第21乃至28頁(1984年)の第2表に示される各種アスコルビン酸誘導体の解離定数(pKa)を参照すると、本物質の場合には、そのアスコルビン酸部分の2位のアルコール基がαー

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

・星色反応:直接還元性を示さず、2,6-ジクロルフェノールインドフェノールを還元脱色しない。2,4-ジニトロフェニルヒドラジン反応を示さない。アントロン硫酸反応で緑色を呈する。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。] ・安定性:

(a) α - グルコシダーゼ作用または1N - 塩酸、 100℃、5分間処理により加水分解され、L -アスコルビン酸とD - グルコースとをモル比 1:1で生成する。

[グルコアミラーゼにより加水分解され、2 - 0 - α - D - グルコシルーL - アスコルビン酸とD - グルコースとを生成する。]

(b) β - グルコシダーゼによっては加水分解されない。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

(c) 2-0-α-D-グルコシル-L-アスコル ピン酸と、特公昭48-38158号公報で開示☆ D - グルコシル結合に関与し、3位のアルコール基は遊離のままであると判断される。

・メチル化分析

前述のバオーウェン・ルー(Pao・Ven Lu)等の文献に記載されているLーアスコルビン酸をジアゾメタンによりメチル化して主に3~0ーメチルーLーアスコルビン酸を生成するメチル化反応の方法により、本物質をメチル化し、次いで、得られるメチル化物を加水分解して分析したところ、主として、3~0-メチルーLーアスコルビン酸とDーグルコースとを生成した。

これらNHR、解離定数、メチル化分析のデータから、Lーアスコルビン酸の2位の炭素のアルコール基がエーテル結合によりDーグルコースと αーグルコシド結合を形成しているものと判断される。

・溶剤に対する溶解性:水、0.1N-カセイソーダ、
 0.1N-酢酸に易溶、メタノール、エタノールに微溶、エーテル、ベンゼン、クロロホルム、
 酢酸エチルに不溶。

れている8-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸およびL-アスコルビン酸との水溶液中での安定性を比較した。すなわち、それぞれの試料を過度70μN、pH7.0またはpH2.0に調整して吸光光度計用セルに採り、これを20℃に維持して経時的に吸光光度計によりpH7.0の場合260nmで、pH2.0の場合245nmで吸光度を測定し、その残存率(%)を測定し比較した。結果は表に示す。

表								
pH	時間(h)	0	0.25	0.5	1.0	21.0		
7.0	2GAsA	100%	100%	100%	100%	100%		
	6GAsA	100%	58%	36%	17%	8%		
	AsA	100%	47%	20%	8%	2%		
2.0	2GAsA	100%	100%	100%	100%	100%		
	6GAsA	100%	99%	98%	91%	55%		
	AsA	100%	99%	97%	87%	10%		

(注) $2GAsAは、本発明の2-0-\alpha-D-グルコシルーL-アスコルビン酸を意味し、<math>6GAsAは、対照の6-0-\alpha-D-グルコシルーL-アスコルビン酸を意味する。$

要の結果からも明らかなように、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸は、6-0α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸のいずれとも違って、水溶液 中できわめて安定である。

[2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン数の性質と実質的に同一の性質を示す。]
・生理活性

(a) チトクロームC 選元活性

2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸と、8-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸およびL-アスコルビン酸とを用いて、チトクロームCの還元活性を比較した。

すなわち、0.1Hリン酸カリウム緩衝被(pH7.8)-0.2mH EDTA 0.5mL、0.1mHチトクロームC 0.1mL、一定量の水を加えて終末被量1mLとし、これにそれぞれの試料10mHを含む10 μLを加え、室温にで550nmにおける吸光度の変化を分光光度計

培地中でヒトの線維芽細胞(7×10⁴細胞/プレート)を1週間培養し、これに³Hープロリンをml当り4μCi、βーアミノブロピオニトリルをml当り20μgおよびたれぞれの試料を0.25mHになるように加えていまり、24時間暗盤した。これに10V/V%トリクロロ酢酸を加え、培養物中のコラーグン成分を回収し、φ結乾燥した。この分間コラゲナーゼ(Ⅲ型)処理を行ない、電心分離し、この上情に含まれる放射能を測定しコラーゲン合成活性を求めた。

その結果、2-0-α-D-グルコシルー L-アスコルピン酸は、アスコルピン酸 と同等のコラーゲン合成活性を有してい ることが判明した。

なお、6-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸のコラーゲン合成活性は、 これらよりやや劣る傾向にあった。

以上の理化学的性質から、本実験で調製した直

にて測定し比較した。還元活性は、反応 初速度より吸光度差(ΔA)/分/10 μ L を 求め判定した。

その結果、2-0-α-D-グルコシルー L-アスコルビン酸は、6-0-α-D-グ ルコシルーL-アスコルビン酸、L-アス コルビン酸のいずれとも違って、還元活 性を示さないことが判明した。

なお、2-0-α-D-グルコシルーLー アスコルビン酸は、実験1の方法で調製 したαーグルコシダーゼ標品により加水 分解されると、この選元活性を示すこと が判明した。

(b) コラーゲン合成活性

2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸と、6-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸およびL-アスコルビン酸とを用いて、コラーゲン合成活性を調べた。

すなわち、イーグルMEM (10%FBS含有)

接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコル ピン酸は、

式[川]:

ただし、nは0または1乃至 6から選ばれる勢数

で示される化学構造を有している。

また、その代妻例としての2-0-α-D-グルコ シルーL-アスコルビン酸は、 式[N]:

で示される化学構造を有している。 実験 3 生体内での生成

ラットに、Lーアスコルビン酸1gとマルトース50 Ong (10 W/V x 液、5 ml) とを経口投与し、経時的に採血し、遠心分離し、その上清(血漿)を用いて、高速液体クロマトグラフィーで確認したところ、αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸および少量のαーDーマルトシルーLーアスコルビン酸に相当するピークは、経口投与後30分頃から認められ、180分で最高に達し、その後、急激に減少し、360

とが判明した。

以下、本発明の実施例として、直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルピン酸の製造例を実施例Aで、その用途例を実施例Bで述べる。 実施例 A-1 αーグリコシルーLーアスコルピン

αーシクロデキストリンβ重量部を水20重量部に加熱溶解し、選元下に保って、Lーアスコルピン酸3重量部を加え、pH5.5、80℃に維持しつつ、これに、シクロマルトデキストリン・グルカントランスフェラーゼ(株式会社林原生物化学研究所販売)をαーシクロデキストリングラム当り150単位加えて40時間反応させた。反応被を高速液体クロマトグラフィー(島本製作所製、LC-8;カラム,YMC AO303 ODS: 溶離液、0.1 H KH2PO4ーH3PO4(pH2.0);流速、0.5 mL/min:検出、日本分光工業(株)MULT-340)で分析したところ、Lーアスコルピン酸が9.5分の位置に現れたのに対し、新たに生成したαーDーグルコシルーLーアスコルピン酸が11.2分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDー

分で血液中から消失した。

このピークのうち、大部分を占めるα-D-グルコシルーL-アスコルピン酸を示す物質を単離し、詳細に調べたところ、前述の2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルピン酸の理化学的性質と同一であることが判明した。

従って、αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、 生体内で生成され、代謝され、消失する生体物質 であることから、その安全性は極めて高いもので あると言える。

実験 4 急性毒性テスト

7周令のdd系マウスを使用して、実験2 (2) での方法で調製した高純度αーローグルコシルーLーアスコルビン酸標品を経口投与して急性毒性テストをしたところ、5gまで死亡例は見られず、これ以上の粉与は困難であった。

従って、本物質の毒性は極めて低い。

なお、実施例A-1の方法で製造したαーグリコシル-l-アスコルビン酸を用いて本テストを行ったところ、同様の結果を得、毒性の極めて低いこ

マルトトリオシルーLーアスコルピン酸が20.6分、 α-D-マルトテトラオシル-L-アスコルヒン酌 が24.9分、α-B-マルトペンタオシル-L-アス コルピン酸が28.1分、α-D-マルトヘキサオシルー レーアスコルピン 酸 が32.1分および α - D - マルト ヘプタオシルーLーアスコルビン酸が38.6分の位置 に現れた。l-アスコルビン酸の約50%がこれらα-グリコシルーレーアスコルピン酸へ変換していた。 本反応液を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾 被を実験2 (2) の方法に準じてαーグリコシルーLー アスコルビン酸の各成分を精製単離し、混合して 各成分を含有したαーグリコシルーLーアスコルビ ン酸を採取し、これを減圧機縮、粉末化してαー グリコシルーレーアスコルピン酸の粉末製品を、固 形物当り、原料のL-アスコルピン酸に対して約90 U/VXの収率で得た。

本品は、直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、

化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A-2 αーグリコシルーLーアスコルビン 励

デキストリン (DE約6) 40重量部を水50重量部に 加熱溶解し、還元下に保って、Lーアスコルビン酸 13重量部を加え、pH5.6、65℃に維持しつつ、これ に、シクロマルトデキストリン・グルカノトラン スフェラーゼをデキストリングラム当り270単位加 えて、40時間反応させた。反応被を、実施例A-1 と同様に高速液体クロマトグラフィーで分析した ところ、L-アスコルピン酸の約85%が、実施例A-1と同様に、α-D-グルコシル-L-アスコルピン 酸、α-D-マルトシル-L-アスコルピン酸、α-D-マルトトリオシルーL-アスコルピン酸、α-D-マルトテトラオシルーLーアスコルピン酸、αーDー マルトペンタオシルーl-アスコルピン酸、α-D-マルトヘキサオシルーL-アスコルピン酸などのα-グリコシルーLーアスコルピン酸に変換していた。 反応液を加熱し酵素を失活させ、濾過し、濾液を 常法により活性炭で脱色精製し、濃縮して、シラッ

ブ状のαーグルコシル糖化合物を含有するαーグ リコシルーLーアスコルビン酸製品を固形物当り原料重量に対して約90W/W%で得た。

本品は、それに含まれるαーグリコシルーLーアスコルビン酸が直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、調味料、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A-3 2-0-α-D-グルコシル-L-ア スコルピン酸

実施例A-2の方法に準じて調製したシラップ状の αーグルコシル糖化合物を含有する αーグリコシル・L-アスコルビン酸製品1重量部を水4重量部に溶解し、これにグルコアミラーゼ(EC 3.2.1.3、東洋紡績株式会社販売)を該製品固形物グラム当り100単位加え、50℃、5時間反応させた。反応被を高速液体クロマトグラフィーで分析したところ、各成分を含んでいた αーグリコシルーL-アスコル

ビン酸は、2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸に変換していた。

反応被を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾液を実験2(2)の方法に準じて精製し、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸高含有固分を採取し、減圧濃縮し、粉末化して、純度99.0%以上の高純度2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸を原料のL-アスコルビン酸に対して約80W/V*の収率で得た。

本品の理化学的性質を調べたところ、実験2 (3) で示す2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸と実質的に同一であった。

本2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸は、直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分なビタミンC強化剤として、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤、化学品、医薬原料などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品、試薬などに有利に利用できる。

実施例 A-4 α-グリコシルーL-アスコルビン

デキストリン(DE18)20重量部を水70重量部に加熱溶解し、還元下に保って、これにLーアスコルビン酸10重量部と実験1の方法で調製した部分精製αーグルコシダーゼをデキストリングラム当り4単位加え、遮光下、pH5.0、50℃で8時間反応させた。次いで実施例Aー2の方法に準じて精製し、機糖、粉末化して粉末状の製品を収率約90V/Wで得た。

本品は、約10 V/VXのαーグリコシルーLーアスコルビン数を含有していた。

本品は、それに含まれる αーグリコシルーLーアスロルビン酸が直接還元性を示さず、安定性、抗酸化剤、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、調味料、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外棘吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A-S α-グリコシル-L-アスコルビン 酸

マルトース10重量部を水80重量部に加熱溶解し、 選元下に保って、これにL-アスコルビン酸10重量 部とシグマ社製コメの種子由来のαーグルコシダーゼをマルトースグラム当り4単位加え、遮光下、pH 8.0、45℃で8時間反応させた。次いで実施例A-2の方法に準じて精製し、濃縮、粉末化して、粉末状の製品を収率約90V/VXで得た。本品は、約15%のαーグリコシルーLーアスコルビン酸を含有していた。

本品は、それに含まれるαーグリコシルーLーアスコルビン酸が直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤ばかりでなく、甘味剤、調味剤、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品などとして有利に利用できる。

実施例 Aー6・αーグリコシルーLーアスコルビン mb

(1) αーグルコシダーゼ療品の調製

マルトース4V/V%、リン酸1カリウム0.1V/V%、硝酸アンモニウム0.1V/V%、硫酸マグネシウム0.05V/ V%、塩化カリウム0.05V/V%、ポリペプトン0.2V/V%、

スコルビン酸が直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、甘味剤、調味剤、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品などとして有利に利用できる。

実施例 8-1 チューインガム

ガムベース25重量部及び実施例A-6の方法で得たαーグリコシルーLーアスコルビン酸含有粉末20重量部とを60℃でミキサーにより混練し、次い売、無水結晶マルチトール(林原商事株式会社販売、登録商標マビット)50重量部、リン酸カルシウム1.5重量部及び 1ーメントールβーシクロデキストリン包接化合物0.1重量部を混合し、最後に調味料少量を混合して充分に凝練し、ロール加工、裁断してチューインガムを得た。本品は、ビタミンCを強化したチューインガムであって、しかも低齲蝕性、低カロリーである。

実施例 B-2 求肥

モチ米澱粉1重量部に水1.2重量部を混合し、加

炭酸カルシウム1V/V*(別に乾熱減菌して植菌時に無菌的に添加)および水からなる液体培地にムコール ジャパニカス(Mucor javanicus)IFO 4570を温度30℃で44時間緩盪培養した。培養終了後、菌糸体を採取し、固定化αーグルコシダーゼ標品とした。

(2) αーグリコシルーLーアスコルビン酸の製造マルトース(林原株式会社 登録商標サンマルト)40重量部を水70重量部に加熱溶解し、選元下に保って、これにLーアスコルビン酸10重量部と(1)の方法で調製した固定化αーグルコシダーゼ係品をマルトースグラム当り10単位加え、遮光下、pH 5.5、50でで3時間反応させた。

これを濾過し、固定化α-グルコシダーゼ標品を回収し、再利用に回した。得られる濾液を加熱し、実施例A-2の方法に準じて精製し、濃縮、粉末化して、粉末状の製品を収率約95V/V%で得た。

本品は、約7V/V%のαーグリコシルーlーアスコルピン酸を含有していた。

本品は、それに含まれるαーグリコシルーίーア

熱糊化しつつ、これに砂糖1.5重量部、結晶性 8 ーマルトース(林原株式会社製造、登録商標サンマルト)0.7重量部及び実施例A-2の方法で得たαーグリコシルーLーアスコルビン酸含有シラップ0.5 重量部を混和し、以後、常法に従って、成形、包装して求肥を製造した。

本品は、ビタミンCを強化した求肥で、老化が抑制され日持よく、口当り、風味良好なきびだんご 風和菓子である。

実施例 B-3 混合甘味料

はちみつ100重量部、異性化態50重量部、黒砂糖 2重量部及び実施例A-3の方法で得た高純度2-0α-0-グルコシルーL-アスコルビン酸粉末1重量 部を混合して混合甘味料を得た。

本品は、ビタミンCを強化した甘味料で、健康食品として好適である。

実施例 B-4 チョコレート

カカオペースト40重量部、カカオバター10重量部、無水結晶マルチトール50重量部及び実施例A-1の方法で得たα-グリコシルーL-アスコルビン

酸含有粉末1 重量部を混合してレファイナーに通して粒度を下げた後、コンチェに入れて50 ℃で二昼夜練り上げる。この間にレシチン0.5 重量部を添加して充分に分散させた。次いで温度調節器で31 ℃に調節し、パターの固まる直前に型に流し込み、震動機でアワ抜きを行った後、10 ℃の冷却トンネルを20分間で透過させて固化させた。これを型抜きして包装し製品を得た。

本品は、吸湿性がなく、色、光沢共に良く、内部組織も良好であり、口中でなめらかに溶け、上品な甘味とまるやかな風味を有する。また、本品は、ビタミンCを強化したチョコレートであって、低力ロリー、低齲蝕性である。

実施例 B-5 サンドクリーム

結晶性 αーマルトース(林原株式会社製造、登録商標ファイントース)1,200 重量部、ショートニング1,000 重量部、実施 例A - 4 の方法で 得た αーグリコシルーLーアスコルビン酸含有粉末10 重量部、レシチン1 重量部、レモンオイル1 重量部、パニラオイル1 重量部を常法により混和してサンドクリー

粒とした後、常法に従って、ゼラチンカプセルに 封入して、一カプセル150mg入のカブセル剤を製造 した。

本品は、血中コレステロール低下剤、免疫賦活剤、美肌剤などとして、感受性疾患の予防剤、治療剤、健康増進用食品などとして有利に利用できる。

实施例 B-8 軟膏

酢酸ナトリウム・三水塩1重量部、DL-乳酸カルシウム4重量部をグリセリン10重量部と均一に混合し、この混合物を、ワセリン50重量部、木口ウ10重量部、ラノリン10重量部、ゴマ油14.5 重量部、実施例A-4の方法で将たαーグリコシルーL-アスコルビン酸含有粉末1重量部及びハッカ油0.5重量部の混合物に加えて、更に均一に混和して軟膏を製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして、更には外傷、火傷の治癒促進剤などとして有利に利用できる。

実施例 B-9 注射剂

ムを製造した。

本品は、ビタミンC強化したサンドクリームで、 口当り、溶け具合、風味とも良好である。

実施例 B-6 錠剤

実施例A-3の方法で得た高純度2-0-α-0-グルコシルーL-アスコルビン酸粉末20重量部に結晶性 β-マルトース13重量部、コーンスターチ4重量部、ルチン1重量部及びリボフラビン0.5重量部を均一に混合した後、常法に従って打錠して、一錠150mgの錠剤を製造した。

本品は、ビタミンC、ビタミンP、ビタミンB2の 複合ビタミン剤で、安定性もよく、飲み易い錠剤 である。

実施例 B-7 カブセル剤

酢酸カルシウム・一水塩10重量部、L-乳酸マグネシウム・三水塩50重量部、マルトース57重量部、実施例A-3の方法で得たαーグリコシルーL-アスコルビン酸含有粉末20重量部及びエイコサベンタエン酸20%含有γーシクロデキストリン包接化合物12重量部を均一に混合し、顆粒成形機にかけて類

実験2(2)の方法で得た高純度α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸粉末を水に溶解、中和し、常法に従って、精製濾過してパイロゲンフリーとし、この溶液を20mL容アンプルにα-D-グルコシルーL-アスコルビン酸500mgになるように分注し、これを封入して注射剤を製造した。

本注射剤は、単体で、または、他のビタミン、ミネラルなどと混合して筋肉内又は削脈内に投与できる。また、本品は、低温貯蔵の必要もなく、安定な製剤である。

本品は、L-アスコルビン酸の場合と比較して、体内滞留時間が約2万至10倍に延長され、徐々に加水分解を受け、L-アスコルビン酸を放出し、L-アスコルビン酸本来の生理効果を発揮する。

また、本品は、ビタミンC補給としてだけでなく、加水分解され抗酸化剤として活性酸素の除去、過酸化脂質の生成抑制などの効果を発揮し、ウイルス性疾患、細菌性疾患、外傷性疾患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿病、白内障、循環器疾患、思性腫瘍など各種疾患の予防剤、治療剤に有利に

利用できる。

実施例 B-10 注射剂

塩化ナトリウム6重量部、塩化カリウム0.3重量部、塩化カルシウム0.2重量部、乳酸ナトリウム3.1重量部、マルトース48重量部及び実施例A-3の方法で得た高純度2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸粉末2重量部を水1,000重量部に溶解し、常法に従って、精製濾過してパイロゲンフリーとし、この溶液を滅菌したブラスチック容器に250αLずつ充壌して注射剤を製造した。

本品は、ビタミンC補給としてだけでなく、カロリー補給、ミネラル補給剤としても利用され、更には、加水分解され、抗酸化剤として活性酸素の除去、過酸化脂質の生成抑制などの効果を発揮し、病中、病後の治療促進、回復促進、更には、ウイルス性疾患、細菌性疾患、外傷性疾患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿病、白内障、循環器疾患患、悪性腫瘍など各種疾患の予防剤、治療剤に有利に利用できる。

実施例 B-11 経官栄養剤

浴用の湯に100万至10,000倍に希釈して利用すればよい。本品は、入浴用の湯の場合と同様に、洗販用水、化粧水などに希釈して利用することも有利に実施できる。

実施例 B-13 乳液

ボリオキシェチレンベヘニルエーテル0.5重量部、テトラオレイン酸ポリオキシェチレンソルビトール1重量部、親油型モノステアリン酸グリセリン1 重量部、ピルビン酸0.5重量部、ベヘニルアルコール0.5重量部、アボガド油1重量部、実施例A-3の方法で得た高純度2-0-α-B-グルコシルーL-アスコルビン酸粉末1重量部、ビタミンE及び防腐剤の適量を、常法に従って加熱溶解し、これにLー乳酸ナトリウム1重量部、1.3-ブチレングリコール5重量部、カルボキシビニルボリマー0.1重量部及び精製水85.3重量部を加え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の適量を加えて撹拌混合し乳酸を製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

結晶性 αーマルトース20 重量部、グリシシ1.1 重量部、グルタミン酸ナトリウム0.18 重量部、食塩1.2 重量部、クエン酸1 重量部、乳酸カルシウム0.4 重量部、炭酸マグネシウム0.1 重量部、実施例Aー5の方法で得たαーグリコシルーLーアスコルビン酸含有粉末0.1 重量部、チアミン0.01 重量部及びリボフラビン0.01 重量部からなる配合物を調製する。この配合物24gずつをラミネートアルミ製小袋に充塡し、ヒートシールして経管栄養剤を調製した。

本経管栄養剤は、一袋を約300万至500mLの水に溶解し、経管方法により鼻腔、胃、腸などへの経口的又は非経口的栄養補給液としても有利に利用できる。

実施例 B-12 裕用剂

DL-乳酸ナトリウム21重量部、ビルビン酸ナトリウム8重量部、実施例A-1の方法で得たαーグリコシルーL-アスコルビン酸含有粉末5重量部及び エタノール40重量部を、精製水26重量部及び着色料、香料の適量と混合し、浴用剤を製造した。

本品は、美肌剤、色白剤として好適であり、入

実施例 B-14 クリーム

モノステアリン酸ポリオキシエチレングリコール2 重量部、自己乳化型モノステアリン酸グリセリン5 重量部、実施例A - 3の方法で得た高純度2 - 0 - α - 0 - グルコシルーL - アスコルピン酸粉末2 重量部、流動パラフィン1 重量部、トリオクタン酸グリセリル10 重量部及び防腐剤の適量を、常法に従って加熱溶解し、これにL - 乳酸2 重量部、1,3 - ブチレングリコール5 重量部及び特製水66 重量部を加え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の適量を加えて撹拌混合しクリームを製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

[発明の効果]

本文で述べたことく、本発明の新規物質αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、直接還元性を示さず、安定性に優れ、しかも、生体内で容易に加水分解され、Lーアスコルビン酸本来の抗酸化性、生理活性を発揮する。その上、αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、生体内で生成され、代謝され

る物質でもあることが判明したことより、その安 全性も極めて高い物質である。

また、αーグリコシルーLーアスコルビン酸がLーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に糖転移酵素を作用させる生化学的手法により容易に生成できることより、経済性に優れ、その工業的実施も容易である。

更に、この直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸は、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲料、加工食品、嗜好物など吸飲食物、感受性疾患の予防剤、治療剤、に利用できる。従って、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸は広範な用途を育し、これら産業界に与える工業的意義は極めて大きい。

図面の簡単な説明 4.図面の詳細な説明

図は、本発明のα-D-グルコシルーL-アスコルピン酸の赤外線吸収スペクトル図を示す。

特許出願人

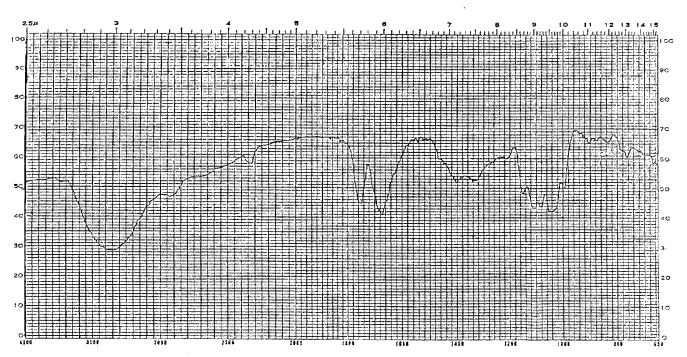
株式会社林原生物化学研究所 代表者 林 原 健

特許出願人

山 本



2



波数 (CM-1)

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載 【部門区分】第1部門第1区分 【発行日】平成10年(1998)7月28日

【公開番号】特開平3-139288

【公開日】平成3年(1991)6月13日

【年通号数】公開特許公報3-1393

【出願番号】特願平1-274518

【国際特許分類第6版】

C12P 19/60

A23L 1/03

2/52

3/3562

A61K 7/00

CO7H 15/26

[F |]

C12P 19/60

A23L 1/03

3/3562

7/00 A61K

F χ

F

CO7H 15/26

A23L 2/00

学 棚 油 正 普

平級8年5月17D

教祥序長官 謝川 佐二縣



1、事件の製金

平成1年特許開第274518号

αーグリコシルーも「アスコルビン酸とその製造方法並びに用途

3、 相正をする者

事件との関係 特許出職人

西山林岡山市下石井1丁目2番3号 林式会社体原生物化学研究所

(4) 1 2

1. 補底の対象

明超甚至文

S. MITOPE

明網各会文を、別紙のように検証します。



9) All 48

1. 発明の名称 a - ゲリコシルーL - アスコルビン酸とその製造方法要びに迅速

2、明祚得求の難選

- (1) 資優選売無を示さないエーグリコシルーレーアスコルビン酸。
- (2) L-アスコルビン酸とα-ゲルコンル線化合物とを含有する単紋に複転影響 系を作用させ、直接電元包を示さないαーグリコシル・L・アスコルビン数を 生成せしめ、これを課取することを特徴とする直接職元性を示さないローグ リコシルーL-アスコルゼン酸の製造方法。
- (8) 額転移跡帯がシクロマルトテキストリン・ダルカノトランスフェラー ぜ (EC 2.4.1.19) またはαーグルコンダーゼ (EC 3.2.1.20) であることを特 徴とする特許請求の時期第(2)項記載の緊接機元性を示さないαーグリコン ルーシーアスコルピン酸の製造方法。
- (4) 底接還元性を示さない εーグリコシルーLーアスコルビン機を含有せしめた 继戒物。
- (5) 量成物が、飲食物、抗肠管持续型剤艾は化粧品である特許請求の範囲第(4)接触数の粗収物。
- (4) 低成体が、直接展示性を示さないローダリコシル・レーアスコルビン酸を0 - 199111/194以上含有せしめたことを特徴とする特許需求の解歴第(4)又は(5)項 記載の組成物。
- (7) 2-0-α-3-グルコシル-1-アスコルピン酸。
- (8) 2-0- ェーコーダルコシルービーアスコルビン職が、ビタミンC独化削、最 味改善剂、安定剂、品質收息剂、抗酸化剂、生混岩性剂、紫外腺吸収剂、突 肌帯又は色白剤である特許諸県の範囲第(7)項記載の2~0~a~D~グルコ シルーLーアスコルビン機。
- (9) t- アスコルビン論とα-グルコシル催化合性と任何有する消滅に報報移野 表または雑転移酵素とグルコアミラーゼ (BC 3.2.1.8) とを作用させ、2-0 - a - p · グルコシルーL - アスコルビン酸を生成せしめ、これを採成するこ たを特徴とする2-0-α-0-グルコシル-1-アスコルビン側の顕進方法。
- (10) 耕転移産素がシクコマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼ

(80 2.4 1.13) またはα-ケルコシケーゼ (30 3.2.1.20) であることを特徴とする特許情報の範囲第(3)項記載の2-0-α-9-ゲルコシルーL-アスコルビン機の製造方法。

- (11) 1-アスコルビン酸とローダルコンル糖化合物とを含有する常数に雑転移 原本又は塩塩砂醇素とグルコアミラーゼ(kC 3.2.1.3)とを作用させて得られる2-0-α-3-グルコンルー1-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸およびD-ダルコースを含有する情報を、高速液体クロマトグラフィー、ゲル酸品クロマトグラフィーなおはれるクロマトグラフィーにかけ、この格尼数の2-0-α-3-ゲルコンル-1-アスコルビン酸高さ有固分を提高することを特徴とする2 0 α 2・グルコンルー1-アスコルビン酸高3を指摘することを特徴とする2 0 α 2・グルコンルー1-アスコルビン酸の動物を指摘することを特徴とする2 0 α 2・グルコンルー
- 112) 2-B-a-b-ゲルコシルー(-アスコルビン敷を含有せしめた組成物。
- (13) 退拡働が、数金物、式監受性投展剤又は化粧品である特許指求の範囲第 (12)強証数の減減物。
- (14) 起床機が、2-0・n・D・グルコシルー1-アスコルビン機を6.0011/84以上負有分しめたことを神珠とする特許持束の報用類(18)又は(14)別記録の組出者。

1. 発明の経典な典集

(農業上の利用分野)

本発明は、接種品元性をおさないαークリコシルーレーアスコルビンをとせい 製造方法並びに用途に関し、質に詳細には、折視物質である直接選元性を形さ ない。一グリコシルーレーアスコルビン酸とその生化学的製造力を並びにαーグ リコシルーレーアスコルビン酸を含有せしめた飲料、加工食品、嗜好性などの飲 気物、熱受性概念の予防剤、治療剤すなわち抗修及性疾患剤および疾肌剤、色 自期などの化粧品なども機能な物への指急に関する。

L-アスコルビン酸を安定化させる方法として、L-アスコルビン酸の影響等 体が異素されている。例えば、先に本発明者等が、「ピクミン」第43種、類20 5万 至209 頁(1971年)、「ピクミン」第47章、第259 万至247頁(1973年)およ 近時全明48-28158号 公耕で、東化学の手供によるL・アスコルビン酸グルコシドの会生能を順スしている。

しかしながら、これらのアスコルビン様グルコシドは、いずれも同様の方法で構製され、待ちれたアスコルビンはについては、例えば、就公戦別2両別14万至14円で、「坪た時毎体はアスコルビン戦の5番の夏末の第1アルコール議がエーテル議会によりゲルコシドを影響したもの」と記録され、また、その生態がマルトースからαーグルコシル等の影響が反応であること、更には、道道連注社を示す性質を育することなどから、その化学構造が、近[10]:

で示されるものであると考えられ、その友達化の程度についても、彼公司実施 例1の妻の結果から別らかなように、L-アスコルビン乗よりは優れているもの の、なお不安定であり、未だ実形化されるに至っていない。

また、石戸等が神公昭58-5920号公欄で、有機化学的手技に上るLーアスコルビン酸製調源外の台級法を関示している。

しかしながら、このアスコルビン酸酸酸等体は、酸金板紫?優第6行乃至然8種 即11行で、2,3ージー9ー (βーβーグルコピラノンル) ーレーアスコルビン酸な ど21種類ものβーβーダルコピラノンル酸のレーアスコルビン酸酸等媒体を難げ で載明していることからも明らかなように、すべてのB ダルコースが自結合し

【能集の技術】

レーアスコルビン酸は、 式(i):

で乗される化学構造を有しており、ヒト、サル、モルモットにとっては、止体 内で全成できず、糸板架弾梁ビタミンCとなっている。

しーアスコルビン酸は、年体内で、例えば、生体組合創業の主度分であるコラーゲンの含成に必要なプロリンやリグンのヒドロキシル化度がに関与し、また、例えば、チトクロームCODE***を報道してFe***にするなどの酸化週元度がに関与し、更には、白血水増加による食物増加作用に関与するなどが知られており、生体の健設維持、指責に重要な数制をなしている。酸血病は、レーアスコルビン種の欠乏症として占くから知られ、皮膚の定義化、主状出血、カロラを分解する性がである。これを予防し、診断を提伸するために、レーアスコルビン酸の推奨・ロ形型は(2041)が定められ、それによれば我国では、成人の予約8888、成人女予50882とされている。

L-アスコルビン機の用途は、単に必須集種系としてのビチミンC強化制にと どまらず、そのも学権等、生現作用から、例えば、陳味料、原文系、酸化助土 料、海色病、安定期などとして移植化学反応をお、飲食物などに、また、ウイ ルス色度型、期間性疾患、属性無償と学受性疾患の予防制、治療制すなわち 気勢変性疾患剤に、更には、耐元病、紫外臓裂収得、メラニン生成的制料など の発肌制、色内部などとして化粧にまず及び、その無潤は風みとはい。

L-アスコルビン側の最大の欠点は、それが直接最元性を示すため、極めて不安率で、腹心分解を受け扱く、容易にその生態所性を失うことである。

ているレーアスコルビン微素筋導体である。

また、東本等が特別昭記-198498号公照で有機化学的手挟によるL-アスコルビン素物着率はの合成法を開示しているが、これもガーグルコシル型のL-アスコルビン機構誘導体である。

また、これらターターグルコピラノシル型のLーアスコルピン情報は海体について、本地間者等が検討したところ、生体、とりわけ、ヒトにおいて、生態的性を充分過程させることの限量にことが相切した。更に、その有機化学的手法による合成版は、反応が複雑で収率も任く、それ数に、経済をが売り、加えて、その概様体の場場性、安全性を指揮する上にないて、相当の関係が浮う欠点のあることもを関した。

観上のように、投業期られているレーアスコルビン産館制造体は、安定性、安 食性、半世間性、最終性などの点で、いずれも不充分であり、その実現を見る に従っていない。

【発明が解散しようとする羅西】

転来の1-アスコルビン機械誘導体の欠点を展消し、安定性に優れ、出体内で し-アスコルビン酸の生息居性を充分発挥し、しかも複曲で支心して利用できる し-アスコルビン機能活導体の実践が強く望まれている。

[爾羅を解決するための学段]

本条明は、競楽のL-フスコルビン機能創業体の欠点を無高するためになされたものであって、とりわけ、出化学的手法による検証修定応を利用し、新しい L-アスコルビン単矩誘導体を出宿して純度研究を続けてきた。

その結果、底満電元的を示さず、安定性に使れ、しかも単体内で容易に加水 分割され、生態各性の点でも申し分のない新規な5-アスコルビン酸機関媒体を 見出し、関に、その製造力体を削立し、併せてこの新規な5-アスコルビン酸 糖養薬体を含有せしめた飲食物、抗糖型性疾患潤、化粧品など各種組成物への 准備を輸立して本外別を完成した。

達た、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸が、Lーアスコルビン酸とローグルコシル類化合物とを終じ版数することにより、建筑内で生成され、 は異される協質であることが利用したことにより、本流明のαーグリコシルー L・アスコルビン酸は、本来、生体内物質であり、安全性の上からも概要的なし ~ アスコルビン瞳の新規な精誘導体と言うことができる。

ちなみに、有機化学的手法によって合成される $\beta=p-f$ ルコシル版の1-fスコルビン機械が存在は、企体内で生成されず、従って、全体にとっては異物と考えられる。

本条列のローグリコンルー1-アスコルビン酸はその顕弦を関わず、生化学的 手法による製権であっても、負債化学的手法による製権であってもよい。

しかし、一般的には、安全性、経済性の上から、L-アスコルビン酸とューダ ルコシル権化合物とを含有する神秘に機械等群果を作用させる生化学的子法により生成させるのが望ましい。

本明編書でいう直接電光性を示さないとは、1・アスコルビン間の場合とは適って、そのままで、2,6ージタロルフェノールインドフェノールを確元関色しないことを意味する。

本明計事でいうレーアスコルビン酸とは、特に不易合が生じない限り、達像のレーアスコルビン酸のもならず、レーアスコルビン酸のアルカリ金属場若しくはアルカリ土類今萬畑などのレーアスコルビン改建、または、それらの混合物を定律する。使って、本発明の類紅体圧がに用いるレーアスコルビン酸としては、逸ま、遊館のレーアスコルビン酸がしてなく、必要によじて、レーアスコルビン酸がナトリウム、シーアスコルビン酸かかシウムなどが過度用いられる。

また同様に、本明無害でいうαーグリコシル・L アスコルビン酸、8-0-α -B-グルコシル-L-アスコルビン酸などについても、特に不存合が生じない 限り、辺熱の酸のみならず、それらの塩をも点味する。

本独明で用いるαーダルコシル環化合物は、同時に所いる物をは得異によってL-アスコルビン酸から重接還定性を示さないα-グリコシルーL-アスコルビン酸を全成できるものであればよく、例えば、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース、マルトペンタオース、マルトペータキース、マルトオリコ報、デキストリン、クロデキストリン、アミロースなどの戦物部分加水分解像、更には、核化療材、財化機能、体に観察などが減重熱化できる。

使って、α-グリコシルー1-アスコルビン酸の生成を容易にするためには、 禁転整度素に好るなα-グルコシル料化合物が進ばれる。 例えば、認証化酵素として、 $\alpha - f / \nu$ コンダーゼ(EC 3.2.1.23)を用いる際には、マルトース、マルトトリオース、マルトチトウオース、マルトベンタオース、マルトへキサオース、マルトへ・プタオース、マルトオクタオースなどのマルトキリゴ軸、または、DE約5万至50のデキストリン、最齢部分加水分解物などが済済であり、シクコマルトデキストリン・グルた / トランスフェラーゼ (iC 2.4.1.10) を用いる際には、シクロデキストリンをたはDE1来質の最初類化制からBE約10のデキストリンまでの固幹部分加水分解物などが経過であり、 α - マラーゼ(EC 3.5.1.1)を用いる際には、D51未買の制化取扱いるOE約380のデキストリンまでの開始体分加水分析物などが発達である。

反応時のレーアスコルビン酸の機度は、適者、19//10以上、道をしくは、約2の 差301//30含有しておればよく、αーダルコシル糖化合物の振度は、Lーアスコル ビン酸に対して、進常、約0.4万±330倍の輸出が野蛮である。

本発明に頂いる雑転移即素は、Lーアスコルビン像とこの経療に好適なαーグルコクル製化合物と必含等する必然に作用させる時、Lーアスコルビン像を分解 けずに、Lーアスコルビン像の少なくとも2位の展演のアルコール表にαーグル コシル素を1万重数個を終してαーグリコシルーLーアスコルビン場を任成する ものであればよい。

別えば、α-グルコンゲーゼは、マウスの智能、ラットの扇花膜、イタ、ブ タの小原など動使由本の酵素、コメモチ、トウモロコン値子など解析出来の群 家、更には、ムコール(fucor)調、ペニシミウム(Penicillium)頭などに属 するカビ、またはサッカロミセス(Saccharomyces)反はどに属する所以などの 塩生物を栄養地域で培養し得られる培養物由集の解索が、シクロマルトデキス トリン グルカノトランスフェラーゼは、パチルス(Bacillus)類、クレプン ーラ((Itobsicita) 現などに戻する場面は最終由来の酵素が、α-アミラーゼ は、パチルス異などに属する都商培養物田米の酵素などが煮工業男できる。

これらの秘証集階素は、前型の条件を耐足しさえずれば、必ずしも有難して 使用する必縁はにく、通常は、窓間裏で本処理の目的を増度することができる 、必要ならに、公知の各種方型で増型して使用しておよい。また、印度の特証 段階系を利用することもできる。使用原素量と反応原制とは、器質な剥削があ り、動をは、解算性の点からむ8つ近3の時間で度をを探りするように影響量が深

ans.

また、関定化された基板等の素をバッチ式で繰り返し、またはは終式で反応 に利用することも有利に変数できる。

本発男の反応方法は、通常、前述の1・アスコルビン酸とローグルコシル務化 会物とも含有する自然に動転移酵素を加え、故障素が充分作用する条件、通店 、2間約3万年9、温度約30万運80世の存属から過程が基準件に積積して行う。また、反応中に1-アスコルビン型が酸化分析を受けられので、できるだけ従気または異元状態で選集でに載付するのが望ましく、必要ならは、テオ反素、悪致健康などを対信させて反応させることも有利に抵抗できる。

また、必要ならば、輸転な区応能を有する数件制の増加中に、I-アスコルビン酸とローグルコンル総化合物とを共享させて、その目的物質を企成させることも有利に複数できる。

本発明の個性質元性を示さない。エクリコンルーしーアスコルビン酸について 述べると、Lーアスコルビン園の少なくとも1位の炭素のアルコール系にαーDーグルコシル素が複合し、その結合数は、1万岩/複数度のグルコンル素が複合し、その結合数は、1万岩/複数度のグルコンル素が複合し、その結合数は、1万岩/複数度のグルコンルみかっし、1分割り、その名々の数質としては、利えば、2-0-α-D-ヴルコシルーしーアスコルビン酸、2-0-α-D-ヴルコシルーしーアスコルビン酸、2-0-α-D-ヴルコシル・レーアスコルビン酸、2-0-α-D-ヴルコシルーしーアスコルビン酸、2-0-α-B-マルトペンタオンルーしーアスコルビン酸などである。 αーグルコンダーゼによって生成させる場合には、適能、2-0-α-B-グルコシルーレーアスコルビン酸にはサを生成させることができるし、必要により、2-0-α-B-グルコシルーレーアスコルビン酸に、2-D-α-B-マルトペンタルーレーアスコルビン酸に、2-D-α-B-マルトツルーレーアスコルビン酸に、2-D-α-B-マルトリオシルーレーアスコルビン酸に、2-D-α-B-マルトリオシルーレーアスコルビン酸に、2-D-α-B-マルトリオシルーレーアスコルビン酸に、2-D-α-B-マルトリオシルーレーアスコルビン酸などを溢定して生まさせることもできる。

シクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼウェーアミラーゼ によって生成させる場合には、一弦に、エーグルコンダーゼの組みよりもエー リーグルコシル番の第音数の大きいものまで混在生成させることができ、使用す るエーゲルコシル糖化合物によっても更新するが、一般的には、シクロマルト デキストリン・グルカノトランスフェラーゼの場合には、α-0-グルコシルボの数が1万至7度度まで分布し、α-7ミラーゼの場合には、これよりその会布がやや乗い程度である。このような混合物である生成演奏、必要によって、α-アミラーゼ(EC 3.2.1.2)、ゲルコアミラーゼ(EC 3.2.1.2)、ゲルコアミラーゼ(EC 3.2.1.2)、ゲルコアミラーゼ(EC 3.2.1.2)、ゲルコアミラーゼを作用させる場合には、2-0-α-D-ブルトンルートーアスコルビン酸以上の高分子物を加水分解し、2-0-α-D-ブルコシルトーアスコルビン酸を簡素生成させることができ、また、β-アミラーゼを作用させる場合には、主に、2-0-α-D-ブルトリコンルートーアスコルビン酸以上の高分子物を加水分解し、1-0-α-D-ブルコンルー1-アスコルビン酸以上の高分子物を加水分解し、1-0-α-D-ブルコンルー1-アスコルビン酸以上の高分子物を加水分解し、1-0-α-D-ブルコンルー1-アスコルビン酸以上の高分子である。

泉上墨べたように、各種方数により生味せしめた製物産元素を示さないα~グリコンルーレーアスコルビン酸含有格数は、一度に、α−グリコシルーレーアスコルビン酸のみならず、未返定のL−アスコルビン酸。α−グルコンル輸化合物などを含有しているけれども、そのままで、α−グリコシルーL−アスコルビン酸含有製品にすることができる。過度は、反応物質を加速するなどして酵素を失蹈させ、通過、過剰してシラップ状の、更には、乾燥、粉末化して粉末状のα~グリコシルーL−アスコルビン酸含有製品にする。

更に、精製された αーグリコシルーLーアスコルビン酸製品を製造する場合には、αーグリコシルーLーアスコルビン酸と来収給のLーアスコルビン酸、Bーダルコース、αーグルコシル輸化合物などからなる資格物との分子道、製和性などの違いを利用する分割手収、例えば、展分離、カラムクロマトグラフィー、高速放体クロマトグラフィー、ケル減速クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーなどの方技で分離相製すれば、高前度の製品を持ることも容利に減速することができる。この際、分離されるLーアスコルビン酸、ローダルコシル基化合物などを、再度、製転を反応の数料として用いることも有利に実近できる。また、機転を反応終了後、クロマトグラフィーなどの分離を通過してきる。また、機転を反応終了後、クロマトグラフィーなどの分離を通過して参考したり、接換異などで製造して原施率の複合性物質、差色物質などを

吸車総元したり、除イオン交換製取(II系)で見られラルしたり、除イオン交換 製脂((6)製)に現材させて水で水洗し、3ーグルコース、α-グルコース硬化会 物など毛障広した後、アニオン岩しくは複製粉質などで脱者級選するなどの暦 製体を製合せて利用することも胎度である。

このようにして得られるロッグリコシルーLーアスコルビン酸は次の特長を省している。

- (1) 質提及元性を示さず、きわめて安定である。Lーアスコルビン酸とは違って、メイラード反応を起こしにくい。 従って、アミノ酸、ペプテド、蛋白質、物質、物質、生理結性物質などと共存しても無用の反応を起さず、むしろ、これら物質を安定化する。
- (2) 加水分解を受けてレ・アスコルビン機を生成し、レーアスコルビン機と間値の違元作用、抗酸化作用を示す。
- (3) 体内の健康により、1-アスコルビン間とD-ダルコースとに容易に加水分離され、こ アスコルビン関本系の生殖差性を示す。
- (4)1ーアスコルビン館とαーグルコシル製化会協などとを採用無限すること により、年体内で無限され、代表される物質であることから、その安全をは 強めて高い。
- (5) ローダルコンル製化合物などの特別を含有する要品の場合には、ユーゲリコンルーレーアスコルビン機の発展を指揮するのみならず、機関が開格、構造効果や、甘味効果を発性することができ、また、物質を除去した検型製品の場合には、製用、増建効果は低いものの、少量でローゲリコンルーレーアスコルビン廃本業の効果を発揮することができる。

これらの特異から、原礎品元性を示さないαーグリコシルーレーアスコルビン 理は、安定性、安全性の高い天然型のビタミンC値化刺としてばかりでなく、星 株改有別、環味制、安定制、品質食品別、抗医化剂、紫外線吸収用などとして、 株文書の、特好物、また、ウイルスと安全、銀用性疾患、至性健康などの感受 性疾患の予防期、治療料、男には、美肌剤、色白剤などの化粧品など、各種組 収物に配合して、逆ましくは、0.0017/物以上配合して有知に知用できる。

また、αータリコシルーシ アスコルビン最は、曖昧、塩から深、漿味、等味 、高味などの単味を有する各種物質ともよく調和し、耐機性、耐熱性も人会い ので、普通一般の収食物、特が物、耐えば、糖油、樹木製油、味噌、粉末装油 、もろみ、ひしお、フリカケ、マヨネーズ、ドレッシング、金酢、三杯香、甘 来すし酢、中毒の素、芡つゆ、畑つゆ、ソース、ケチャップ、機関のタレ、カ レールウ、シチューの裏、スープの素、ダシの素、複合調味料、みりん、新み りん、テープルシュガー、コーヒーシュガーなどの各種資味料、せんべい、あ らむ、おこし、カリントウ、収配、番取、まんじゅう、ういろう、おん類、羊 黄、水芋藁、締虫、ゼリー。カステラ、鮎玉などの各種面集子、パン、ピスケ ット、クラッカー、クァキー、パイ、ブリン、シュータリーム、ワッフル、ス ポンジケーキ、ドーナツ、チョコレート、チューインガム、キャラメル、キャ ンデーなどの各種洋菓子。アイスクリーム、シャーペットなどの水果、水敷だ どのシロップ最、バタークリーム、カスタードクリーム、フラワーペースト、 ピーナッツペースト、ブルーツペーストなどのスプシッド、ペースト語、ゆ。 ム、マーマレード、シロップ量、糖素などの裏葉、野菜の加工を見頭、パン働 、頻繁、米燥質、人造肉などの袋類加工食品額、サラダオイル、マーガリンな どの柏脂食品類、福神蔵、べったら黄、干飲液、らっきょう歯などの葡萄類、 たくあん演の表、白菜間の苦などの複句の素類、ハム、ソーセー男などの香肉 - 製品類、魚肉ハム、魚肉ソーセージ、カマポコ、チタワ、ハンペンなどの魚肉 製品、ウニ、イカの塩辛、酢コンプ、さきするめ、ふぐのみりんそしなどの各 福建珠額。のり、山澤、する心、小魚、貝などで製造されるつくだ穀類、煮豆 、 ポテトサラダ、コンブな、天ぷらなどのそう薬食品、端糸卵、乳飲料、バタ 一、チーズなどの卵、乳製品、魚肉、青肉、果実、野菜などのビン語、缶詰家 、台政派、健盗派、県実羅、禅僧などの所類、コーヒー、ココア、ジュース、 素、紅素、ウーロン茶、炭酸製料、乳酸飲料、乳酸酶飲料などの漆成飲料水。 ブリンミックス、ホットケーキミックス、即席ジュース、非席コーヒー、興度 しるこ、即席スープなど即席状食品などに、ビタミンC強化剤、系染液養剤、酸 味剤、品質質以剤、安定剤、抗酸化剤などの目的で有利に利用することができ る。また、家畜、家禽、蜜蜂、蚕、魚生どの飼育動物のための飼料、無料など にピタミンC強化病、忌味改善期、抗酸化粧、暗経臨海上などの目的で配をして 利用することも好無合である。

その他、タバコ、トローチ、肝痛ドロップ、複合ビタミン型、自中清疾病、

日中登録、うがい類、無管保養剤、内盤菌、注材剤、核歯みかき、口紅、アイシャドウ、乳液、化粧水、クリーム、ファウンデーション、日焼け止め、燃剤石酸、シャンブー、リンスなどの各種温状、ペーストは、類状の環好物、適受性疾患の予防剤、治療制すなおの悪受性疾患の手、悪いは、滑外機能な利、第のに 対して関係することも有利に実施でき、更には、滑外機能な利、第の代 数止的などとしてブラスチック製品などに配合して利用することも、α・グェコジド加水分配酵素の割定用蓄質などに別用することも有利に実施できる。

また、本発列でいう那受機の扱とは、ローグリコシルーレーアスコルビン機によって予防され若しくは冷変される護風であり、それが、例えばワイルス包髪率、規則性氏性、具体性疾性、免疫疾生、アレルギー疾患、関係等性、自内解、固性無難などであってもよい。ローグリコシルーレーアスコルビン酸番素性疾性の予防消害しくは治療制は、その目的に応じてその形状を自由に遊れでさる。例えば、政器制、以関係、の原制、を制力などの表現、教育、はっな消、クリームのようなベースト刑、関河、職業、カブセル州、統列などの過剰などである。最初に当たっては、必要に応じて、他の成分、利えば、治験利などの引援者しくは2番以上と併用することも経営である。

- 変与量は、含量、適用後端、変与無変などによって適宜資源することができる。通常、成人1日当り、内3.001万年180グラムの施留が経過である。

また、化粧品の具合も、大体、前述の予防剤、治療剤に難じて利用することができる。

8 グリコンルー1・アスコルビン酸を含有せしめる方法としては、それら各種組織物の費品が完成するまでの工程で、例えば、限和、無控、治療、浸液、飲布、飲布、快煙、仕入など公知の方法が適宜透はれる。

また、本発明のαーグリコシルーL-アスコルビン酸、または、2 0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸が、避難の酸の場合には、必要により、これを未確化会器、炭酸会異などの水溶液と反応させて、2-D-α-0-グルコビラノンル-1-アスコルビン酸の塩、供えば、ナトリウム塩、カルシウム塩、マグネンウム塩、気塩、周塩、蒸醤塩などにして、μ1消死するとともにビタミンCF-μビラフルとを係せ持つ物質を消費し、これを果食液化剤、化学適品などと

して桝用することも前粉に実鑑できる。

以下、本発明の直接表元性を示さない。-グリコシル・L・アスコルビン酸の 代表例を実験を用いて詳細に裁明する。

実験 し αーグルコシダーゼ級品

ラットの小職を9.18リン康権観測権(pi7.0)に2017以になるように加え、これをホモゲナイザーで均質化し、適心分額(4,000×g、10分円)し、この上行にメルク社製トリプシンを解末態度の.1g/ルになるよう加えて実証下で4時間栽培し、次いで冷エタノールを2時を加え、進心分種し、この比較を0.018リン成類観賞数(pi7.0)におかして、甲身際に入れ、同識指数に対して45年間適新した

その後、常生に従って、BEAS・セルロースカラムクロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトカラムタロマトグラフィーにかけ、αーグルコシダーゼ素性質別を採取し、これを確認確認したものをαーグルコシダーゼ構品とした。 本品は比較性50.6(単位/nx限白質)で、規模で率450位、活性収率約47%である。

ここでいう核性1単位とは、1.35ml ROTAを含む0.1m物質機模可限(p86.0)7 50μlと49/93マルトース250μlとの高度に、適当に考取した障害核100μlを加え、37でで50分間反応させた後、お臍水に3分階値って見たを体まさせ、これを違ふの値し、その上降20μlを取り、これに発色試験(グルコースオキンダーゼ法、初光調響器、商品名グルコースBチェスト); inを加えて、87でに20分間保って売む半年、次いで1050mにおける吸充度を設定する条件で、37で、1分周に14moleのグルコースを設定する影響温をいう。

実験 2 α-0-グルコシル-1-アスコルビン検

(1) 独転移反応

しーアスコルビン障7.04歳最新、マルトース12.8重量部によびテオ以来0.2 重量制を0.24計算級債款(pifs.3)100重量年に治経し、更に、契款10万次で 再製した創分情報は一グルコンダーで概念をマルトースダラム当り3.5% 位加 人、進光で、50℃で5時間反応させた。改いで、4位等の1.05年/V8メクリン強 治理学別人資素を実施とせて反応を体を1.5。

本品を高速数体クロマトグラフィーで測定したところ。 反応に用いたし ア

スコルビン側の約3.03×1数酸高软に変換していた。

133 10 10

(1) の反応停止放を、3 to・Rod 机製造のマル連追列(商品名 Bite-Sel F-2)を用いて、水を溶出表としてゲル連通クロマトグラフィーを行ない、α-0-グルコシルーレーアスコルビン酸の高含有耐分を採取し、次いて急祉制作所製造のカラム(商品名 Shiz-pack OBS)を用いて、0.37/FS野酸を溶出液として再進減休クコマトグラフィーを行ない、α-1-グルコシルールーアスコルビン飲富含百分を採取し、減圧緩吸し、流動を乗し粉末化して、減度99.9%の高齢度α-18-グルコシルー1-アスコルビン酸医含を、反応減中のα-18-グルコシルー1-アスコルビン酸医含化で、以外約987/FSで発売。

(3) 理化学的性質

本色明の α - グリコンルーL-アスコルビン酸の代表例として、(2)で調製 した系統度 α - B - グルコシルーL- アスコルビン整着品を用いて、次に示す 選化学的性質を導べた。

なお、 $\alpha = \theta = f(n)$ カルコシルー $\theta = f(n)$ かいコシルモの間の大きいものの例として、後に述べる実施例 $\theta = f(n)$ が、サコシルー $\theta = f(n)$ が、できるだけの範疇内で作べ、その後質をカッコ内[]に示した。

・元素分析:CiaBiaOiiをして

BISA GC C = 42, 6% | 11 = 5, 56%

突溅值C≈4Z,3% H∞5.38%

N < 0.01%

・分子墓:質量分析製量 (日立製作所製、21-305)を用いてPDマススペクトルを消度した料果、(5+5)*(C+81+0+ 8 # = 338)として339が戦調された

・紫外線圏収スペクトル:pI7.0で260mmに、pB2.0で258mmに吸収拡大を示す

[本性質と緊関的に関一の性質を示す。]

・赤外編映収スペクトル:IBr錠剤性で側定した。

結果は、同に示す。

紙した。

これらNBL、解制定数、メテル化分析のデータから、1-アスコルビン 他の2位の成素のアルコール基がエーテル結合により3-グルコースとα -グルコンド結合を形成しているものと判断される。

・府用に対する形解性: 水、0.1% - カセイソーダ、0.1% - 脊髄に長線、メタ ノール、エタノールに維体、エーテル、ベンゴン、クロロホルム、野東 エチルに不確。

【本性製と集製的に関一の生質を示す。】

・現色産品:直接運光性を示さず、2.6-ジクロルフェノールインドフェノールを選示誌色しない。2.4-ジニトロフェニルヒドラジン反応を示さない。アントロン政権反比で最低を呈する。

〔本性質と実質的に関一の性質を示す。〕

- 安安休:

(a) α - グルコングーゼ和州または18- 塩酸、100℃、1分類処理により加水分解され、1-アスコルビン酸と0-グルコースとあるル比い1で比波する。

【グルコアミラーゼにより加水分解され、2-0-a-B-グルコシルー L-アスコルゼン戦とB-グルコースとか争返する。\

(b) B - グルコンダーゼによっては加水分解されない。

[本性質と実質的に買いの性質を示す。]

(a)1-0-a-b-ゲルコンル L アスコルビン酸と、極公博48-38138 与公報に関示されている6-0-α-D-ゲルコンル L アスコルビン 腫およびL-アスコルビン際との水体値中での安定性を比較した。すな わち、それでれの裁判を過度70μ以、pl7.0まとはeB2-0に剥棄して製作 方度利用セルに乗り、これを20℃に維持して影味的に致力の送針によ りpL7.6の場合3(3nmで、pl2.4の場合2(5nmで及光度を創定し、その保 存取(5)を例定し比較した。始果を分変に集す。 しず性質と緊ਆ的に同一の性質を示す。】

- NSR:NSR側定変器(日本電子製、JBK - GX499)を用いて測定した。

御里邦提は頭水を用い、削定時の磨破のplfは2.8であった。

| 内の機能としてTSP (sodium 3 - trimethyl - sitylpropionale-2, 7, 3 , 3 - 4) を助いた。

'B-MMR & ppm (D.O)

3.50 (iii. dd, $J \approx 9.5$, J = 9.7 (iz)

3. 56 (18. dd, J = 8.4, J = 8.8 f(z)

3.75 (28, d, J-6.4 (x)

3.7% (28, d. J=3.0 Ez)

3.86 (il, dd. J=9.5, J=9.5 Fx)

4. 92 (18. dt. I = 9.7. J = 3.1 Nz)

4.98 (18. td, f=8.4, J=1.8 Rx) 4.91 (18. d, J=1.5 Hz)

5. 52 (18, d, J = 3.4 Ba)

·解蒙定数:pRa=8.6

この値を、ゼイ・ゼルノウ(J.Jornov)は、チトラヘドロン(Tetral: edron)第35名、第1483万盃[488]([379年)の第1表およびパオーウェン・ルー(Feo - Fen Le)等、ジャーナル・アグリカルナュラル・フード・ケミストリー(Journal of Agrical tural Food Checistry)第32号。 第21万年28頁([3814年)の第2歳に対されるを置フスコルビン解制権体の解点実践(pEa)を参照すると、本物質の場合には、そのアスコルビン指制があった。本物質の場合には、そのアスコルビン指制の2位のアルコール系がローローグルコンル結合に関与し、3位のアルコール系は対解のままであると判断される。

・メチル化分析

資益のパオーウェン・ルー(Pase Fen Lu)等の文献に記載されている シーアスコルビン機をジアゾメタンによりメテル化して主に3-0-メテル - L-アスコルビン機を基本するメデル化反応の方法により、本権資本メ 方が化し、次いで、扱うれるメテル化機を加ま分解して分析したところ ・ まとして、3-0-メテル-L-アスコルビン機とは、アメレーキャ

Æ

pil	# B	0	0. 25	0.5	1. 0	21.0
7. 0	2GA&A	100%	100%	100 K	30 FR	100%
	6GARA	Lanx	b 85	56%	176	8 %
	Asa	100%	475	204	83	22
2.0	20As#	100%	1002	1003	10 93	100%
	#GAsi	100%	90%	981	9.1%	55%
	As4	100%	993	97%	8 7 X	198

(液) 264s.kt. 木美明の2-9-α-8-ゲルコシル-L-アスコルビン値を 意味し、564s.kt. 対限の8-9-α-8-ゲルコシル-L-アスコルビン 液を、Askは、対限のL-アスコルビン値を意味する。

表の結果からも明らかなように、2-0-a-0-グルコンル・L-アス コカビン環は、8-0-a-8-グルコンル・L-アスコルビン酸、L-アス コルビン酸のいずれとも違って、水帯度中できわめて会差である。

{β 0 - α - D - グルコシルー L - アスコルビン酸の 在営と実質的に同一 D 在資金余寸。)

・生理詩性

la)チトクロームE選元活性

2-0- α-3- ダルコシル・1- テスコルビン歳と、6-0- α-5 - グルコシル-1- デスコルビン歳および1- アスコルビン機とを用いて、チトクロ- ACの選売を転を比較した。

 その結果、2-0-c-D-グルコシル-L-アスコルビン強は、6-0-c-D-グルコシル-L-アスコルビン酸、6-アスコルビン酸のいずれとも違って、違元活性を示さないことが制勢した。

なお、 Σ − 0 − σ − 0 − グルコシル − 1 − アスコルビン酸は、興致し の 方決で腐割した α − グルコシダーゼ 増品により加水分解されると

、この観光絶技を示すことが判明した。

(14)コラーゲン合成括性

2・0・α - D・ゲルコシルーt・アスコルビン酸と、 t - D - α - D ー グルコシルーt・デスコルビン酸およびt - アスコルビン酸とを用いて、コラーゲン合成液性を調べた。

すなわち、イーダルBER(10AFBS全首) 水地中でヒトの繊維対象 施(7×101無限/ブレート)を1週間特集し、これに18-プロリンを 助出り4点に、ターフミノブロビオニトリルを同当り20点をおよびそ れぞれの試料を0.25m以になるように加え、更に、24時期非難した。 これに107/95トリクロで除職を加え、均差値中のコラーゲン成分を 回収し、複数体操した。この核晶を指射し、18を間隔後、27℃、3 0分間ロラゲナーゼ(日辺) 処理を行ない、減心分離し、この上指 に含まれる数別能を制定しコラーゲン合成的性を求めた。

その制度、2-0-α-0 グルコシルー4-アスコルビン理は、ア スコルビン環と再等のコラーゲン企業者並を有していることが利望 した。

なお、 6 -- 0 -- α -- D -- グルコシルーL -- アスコルピン酸のコラーデン会成活性は、これらよりやや劣る積荷にあった。

以上の理化学的物質から、本実験で複製した直接着見性を示さないα ダ リコシル・1・アスコルビン維は、

体クロマトグラフィーで確認したところ、α・D-グルコシルーも-アスコルビン環および少量のα-B-マルトシルーも-アスコルビン酸に相当するピークは、毎日投与後39分域から認められ、180分で最高に減し、その後、金銭に減少し、380分で直載やから消失した。

このピークのうち、大部分を占めるαーβーグルコシルー1.-- アスコルビン酸を示す物質を保敵し、詳細に調べたとこう、資法の8-0-x-0-yルコシルーレーアスコルビン酸の単化学的性質と同一であることが何躬した。

欲って、a = V 0 コンルーL - アスコルビン療は、生体内で年成され、代謝され、別欠する生体物質であることから、その安全性は極めて高いものであると言える。

実験 4 象性症性テスト

- 7週年のdd系マウスを使用して、実験2(2)での方法で調製した高級度α−0 ーグルコシル レーアスコルビン酸課品を超口数年して急後年性テストをしたと ころ、作成1kg当たり5gまで死亡例は見られなかった。

従って、本物質の存住は様的で張い。

なお、棒に洗べる実施例A-1の方法で製造したα-グリコシルール-アスコル ビン臓を用いて本デストを行ったところ、同様の効果を得られ、食性の極めて 低いことが特別した。

以下、本発明の実施制として、直接運元性を示さないαーグリコシルーレーア スコルビン酸の製造例を実施制かで、そのαーグリコシルーエーアスコルビン酸 の各番素取物への用途例を実施例3で述べる。

実施的 オーモ αーグリコシルー1~アスコルビン酸

a ーシクロデキストリン9面製作を水の電量部に加加物解し、激元下に低って、Lーアスコルビン酸制量機を加え、pDS.5、60℃に維持しつつ、これに、シクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼ(株式会社村原生物化学研究所販売)をローシクロデキストリングラム当り150単位加えて40時間反応させた。3.の版を高速減休クロマトグラフィー (高階量作所要、UC-6:カラム、24C 49802 0DS:接敷板、0.12 KB,70、-13.40。(pUZ.0);油油、0.5元人/pIn:液位、日本分光下表表、20U.7-340)で分析したとごろ、1ーアスコルビン域が4.5分の位置に異れたのに対し、新たに重要したボーD・グルコンルーLーアスコルビン域を4.5分の位置に異れたのに対し、新たに重要したボーD・グルコンルーLーアスコルビン域

%(m):

ただし、aはtigをは1万里 Bをときがわりませい

で示される化学構造を有している。

また、その代表例としての 2 \sim 0 \sim α \sim D \sim グルコシルーL \sim プスコルビン酸は、

aliva:

で示される化学構造を有している。

実験 3 生体内での非証

ラットは、L-アスコルビン酸 lg とマルトース500 mg(t US/代数、5 nt)とを基 口投りし、経時的に乗加し、第4分 煎し、その上滑(血洗)を用いて、高速度

が11、2分、α - 0 - マルトシルーL - アスコルビン酸が15.7分、α - D - マルトトリオンルーL - アスコルビン酸が21.8分、α - D - マルトテトラオシルーL - アスコルビン酸が21.9分、α - D - マルトテトラオシルーL - アスコルビン酸が22.1分、α - D - マルトペンタオシル・L - アスコルビン酸が22.1分 か、α - D - マルトペーキサオシルーL - アスコルビン酸が32.1分 32.1分 32.1分

本品は、既後應定性を示さず、安定性、生理結婚も丸分で、ビタミンC制化剤 としてばかりでなく、安定剤、温質性良利、技能化制、生型過性用、除外額吸 収割などとして、集合物、抗感受性疾患剤、化粧品など、各種剤は物への用途 に利利に利用できる。

実施側 A−2 α−グリコシル・L−マスコルビン側

アキストリン(05約6)40度数部を水50策量部に加熱冷解し、超元下に催って、L・アスコルビン関1位度部を加え、p85.6、85℃に維持しつつ、これに、シクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーギモデキストリングラム政化ン関1位度部をまた。 反変成を、実施側a・1と同様に高速液体クロマトグラフィーで分析したところ、L・アスコルビン酸の約658が、実施例A・1と同様に、αーD・アルコシルーL・アスコルビン酸、αーD・マルトシルーL・アスコルビン酸、αーD・マルト・フスコルビン酸、αーD・マルト・フスコルビン酸、αーD・マルト・フスコルビン酸、αーD・マルト・フスコルビン酸、αーD・マルト・フスコルビン酸、αーD・マルト・アスコルビン酸、αーD・マルト・フスコルビン酸、αーD・マルト・フスコルビン酸、αーD・マルトへキサオシル・L・アスコルビン酸で変換していた。反応核を加熱し青素を失活さな、運動し、確度を常性により活性度で変色が疑し、強縮して、シファブ状のαーグルコシル再に合物を含まするスーグリコシル・L・アスコルビン酸要品を削影像当り原料数量に対してある04万11で展去。

本品は、それに含まれるロージリコシルーL-フスコルビン酸が直接激活性を

末志す、安定性、生理所包も充分で、ビタミンC飲化剤としてばかりでなく、塩 味料、保証剤、安定剤、品質収良剤、抗酸化剤、生態処性剤、常外線验収剤な どとして、飲食物、其態受性疾患剤、化粧品など、各種製収制への用途に有到 に利用できる。

実務例 4~1 2 ·0~α~3 · グルコシル~1~アスコルゼン度

実施列 4-2の方法に取じて選到したシラップ状のα-グルコシルは化合物を 会有する α-グリコシル・1、アスコルビン放製品1就量的を水/家看部に解解し 、これにグルコアミジーゼ(kc 3.2.1.3、単体的模様式会任展党)を展展展開 影像グラム当り100単位加え、50℃、5時間反応させた。反応放を高速液体クロ マトグラフィーで分析したとこう、多数分を含んでいたューグリコシル・1。ア スコルビン験は、2.6-α-a-b-グルコシル・1。アスコルビン酸は反換してい た。

反応能を加利して酵素を失例させ、強適し、減減を実験1(2)の方法に申じて特別し、2~5~4~1)・ダルコシル・レーアスコルビン酸素含有管分を提配し、 は漁却し、砂木化して、検皮93・05以上の商制度2~5~4~1)・グルゴシル・5~アスコルビン酸を取料のLーアスコルビン酸に対して約6.09/TMの模様ではた。

本品の理化学的性質を調べたところ、実験2(1)で示す2~0~α~0 ダルコシルーレーアスコルピン酸と収置的に同一であった。

本2-0-a-D-グルコンル・L-アスコルビン酸は、固様展元性を示さま、 変定性、中期終性も充分などクミンC性化無として、安定間、品質改良用、技能 化剤、生理精性剤、紫外線量収剤、化学品、医薬原料などとして、飲食物、抗 要変性医療剤、化甘品、試真など、多種組取物への用途に有利に利用できる。 質範側 A-4 a-グリコンル・L-アスコルビン酸

デキストリン (9818) 20監査年を水70重量値に加納格解し、選叉下に従って、これにレーアスマルビン酸10面製部と実験10 方法で研製した部分報覧ローグルコンダーゼをデキストリングラム当り4厚位加え、導光ド、p18.18、50℃で8時間反応させた。次いで実施到5-2の方法に築して特質し、強縮した後、砂水化して特美状の調品を収棄的50円/81年ではた。

本品は、約100F/VKのローグリコシルール アスコルビン機を含有していた。

本品は、それに含まれるαーグリコシルーLーフスコルビン験が直接表元性を 末まず、安定性、抗酸化剤、生到新性も充分で、ビタミン溶化剤としてばかり でなく、調体料、保証剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理原性剤、繁外 報受収得などとして、放血物、抗熱受性変型剤、化粧品など、各種組成物への 用途に有利に質用できる。

実施例 4~5 αーグリコシルーレーアスコルビン機

マルト・ス16重要都を水80変計型に加熱変解し、変元下に係って、これにレフスコルビン度10度製御とシグマ発展コメの物子由来のローグルコシデーセキマルト・スグラム当り4単型頂え、進光下、#16.0、55でで特別反応させた。放いで東東側4-2の方法に挙じて情報し、満層した後、粉末化して、粉末状の製品を収集的905/78で得た。本品は、約158のローグ)コシルーLー・アスコルビン酸を含ましていた。

本品は、それに含まれるαーグ JコシルーLーアスコルビン酸が直接産元性を示きず、安定性、生理治性も充分で、ビタミンC酸化剤はかりでなく、甘味剤、調味剤、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗硬化剤、生理粉性剤、素外維吸収剤などとして、致食物、洗燥薬性原果剤、化粧品など、多機構成物への用途に有利に利用できる。

実施代 A=6 α・グリコシカー5-アスコルビン酸

(1) ローダルコシダーを目品の調整

マルトース47/7%、リン酸1カリウム0.19/1%、硝酸アンボニウム0.19/7%、G 酸マグネシウム0.058/7%、左セエリウム0.039/7%、ポリペアトン0.23/7%、展験 カルシウム13/7%(別に発格製画して調倫時に保護のに添加)および水からなる 後体海地にムコール・ジャパニカス(Yuser javanicus)(FD 4576を選及10℃で 41時間個数特美した。均差終了後、高泉体を採取し、間度化コーダルコンダー 支援品とした。

(2) α - グリコシルーL - アスコルビン機の要素

マルトース(朴原体式会社 登録有様サンマルト)40重量部を水70重整部に加熱物解し、運元下に残って、これにレーアスコルドン器11室景部と(1)の方法で調製した間足化ローダルコンダーゼ福品をマルトースグラム当り10年他加え、越光下、p15.5、50℃で9時間反応とせた。

これを構成し、固定化αーゲルコシダーゼ機品を同収し、再利用に関した。 ほられる繊維を加熱し、実施例A-2の方法に関して限製し、機械した強、粉水 化して、粉水状の製品を収率約967/18で得た。

本品は、約77/98のαーグリコンルーLーアスコルビン酸を含有していた。 本品は、それに含まれるαーグリコンルーLーアスコルビン酸が軽度量気性を まさず、安宝等、生理条件も充分で、ビタミンC粒化剤としてはかりでなく、甘 集高、明味剤、得湿剤、実定剤、品質改善剤、抗液化剤、整理合性剤、原外級 電理剤でどとして、飲食物、紅果及性疾患剤、化粧品など、多種組成物への用 悪に有利用できる。

英雄例 B 1 チューインガム

ガムベース25家員部及び実施例1-8の方法で得たローダリコシルーL・・アスコルビン教会有額末20金量等とそ60ででミキサーにより勘練し、次いで、原水始島でルチトール(林頂南事株式会社近光、登録商様でピット)50個量部、リン業カルシウム L.5重量部及び1ーメントールターシクロデオストリン包接化合物 1.1面最終を複合し、最後に高味料少量を懸金して充分に減越し、ロール加工、及廃してチューインがムを得た。本品は、ビタミンCを数化したチューインがムであって、しかも保険軟性、従カロリーである。

突旋倒 B 2 求歷

モチ朱素的 | 監禁的に水1.2 変量部を扱合し、海熱部化しつつ、これに移植1.5 貫道部、輸品性ターマルトース(林原株式会社製造、登録的様チンマルト) 目 「消量事及び実施利力の方法で様となっプリコシルーLーアスコルビン総合有 ファップ 0.5 集集部を展制し、放強、守法に関って、成形、包装して以配を製造 した。

本品は、ビタミンCを動化した東里で、老化が抑制され目的よく、口当り、風 は良好ならびだんご風和菓子である。

実施例 E-3 混合甘味料

はうみつ100重要が、異性化粧50素量部、素の糖2重量が及び実施例4-3の方 まで考た資料版2-0-4 3-グルコシルーL-アスコルビン酸粉米1重量配を扱 合して複合可吸料を認た。

本品は、ビタミンCを強化した甘味料で、後度食品として好意である。

実頂例 B~4 チョコレート

カカキペースト40電量額、カカオバター11監量店、鉱水結晶マルテトール50 製量部及び実践例A-1の方法で得たボーグリコシルーレーアスコルビン機会有粉末1需量部を混合してンファイナーに適して乾度を下げた後、コンチェに入れて50でご品を確認り上げる。この間にレジチン0.5重量部を悪地して充分に分量させた。次いで延度製業器で81では原因し、バターの固まる直前に限に施し込み、顕動機でアワ抜きを行った後、10℃の冷却トンネルを20分間で過過させて関化させた。これを製物をして物質と製品を特に、これを製物をして物質と製品を特に

本品は、脊髄性がなく、色、光を共に直く、内部組織も長野であり、口中でなめられて溶り、上部な対称によりやかな趣味を有する。また、本品は、ビタミンCを数化したチェコレートであって、個カロリー、値関数性である。 女教書 8-5 センドクリーム

」 結晶数 α − マルトース(林朝株式金社製品、登券商場ファイントース) 1,20 0 定算器、ショートニング1,306百量制、実施的 λ−4の方法で移た α ・グリコン ルー1ーアスコルビン政会有目末10型産場、レシチン3登登線、レモンオイル1 量等、パニラオイル1直量部を合法により真印してサンドクリームを製造した。

本品は、ピクミンC数化したサンドクリームで、口当り、無け具合、風味とも 放好である。

逐遍费 8~5 锭规

・ 実施例A - 3の方法で移た局施度2 - 0 - ェ 3 - デルコシル・レーアスコルビン 連続末10重量部に結晶チョーマルト- 2 (3 変量部、コーンスターチ4 変量部、ル チン(重要部及びリポアラビン0.5 重量部を均一に組合した後、常生に従って打 似して、一般(40mmの条例を製造した。

- 本品は、ビタミンC、ビタミンP、ビタミンBiの複合ビタミン剤で、安定性もよく、飲み易い鏡倒である。

実験例 3-7 カブセル共

酢酸カルシウム・・水塩10重量能、L-乳酸マグネシウム・三水塩50重量部、 マルトース57重量能、実施明1 3の方法で様たε-グリコシルーレーアスコルビン酸含有額米加重量常及びエイコサベンタエン酸20m含省マーシクロデェストリン医誌化会物12重異報を淘→に融合し、衝性成形機にかけて硼酸とした後、常 歴に従って、 ぜうチンカプセルに対人して、 ーカプセル [50mm]人のカプセル剤を 製造した。

本品は、血中コレステロール版下刺、免疫域役割、英帆和などとして、感受 性疾患の予防潤、治療剤、健康構造用支品などとして有利に利用できる。 実施料 B-8 対容

難度ナ・リウム・三水線1重量率、BL-乳酸カルシウム4重量部をグリセリン 10重量等と対一に組合し、この総合物を、ワセリン50重量源、木口ウ10重量器 - ラノリン10重量制、ゴマ酸14.5重量部、実施例A-4の方性で係た a ーグリコ シルーL--アスコルビン銀合有製木1重量制及びハッカ前6.5進量部の総合傾に加えて、更に対一に批和して軟管を製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白質などとして、更には外傷、火傷の治療 促進剤などとして有利に利用できる。

实施例 8~9 注射剂

実施2(2)の力機で得た高減度の「3ーダルコシル」し、アスコルピン酸粉末を水に増解、中和し、常法に従って、複製強悪してパイロゲンプリーとし、この密度を20mL等アンプルによっ6ーダルコシルーも「アスコルピン最50legになるように分生し、これを耐入して起射剤を製造した。

本連計類は、単体で、または、他のビタミン、ミネラルなどと張合して訪内 内又は野族内に投与できる。また、本品は、低温貯蔵の必要もなく、変定な要 類である。

本品は、L アスコルビン酸の場合と比較して、除み指領時間が約3万至10倍 に延長され、終々に加水の原を受け、L-アスコルビン酸を飲出し、2 アスコ ルビン酸本来の変更必要を発揮する。

また、本品は、ビタミンBの補給としてだけでなく。加水分解され水酸化剤と して新分酸素の除患、延酸化脂質の抗減影制などの効果を発揮し、ウイルス生 疾激、刺療性疾患、外傷性疾患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿病、白内腺 、簡異器疾患、漏性腫瘍などの各種疾患の予防剤、治療剤に有剤に利用できる

尖线的 B--10 左射剂

塩化サトリウェ6素量率、塩化カリウムG. A素量が、塩化カルンウムG. A型量器

シユチレンソルビトールL飲食物、製剤型モノステアリン用ゲリヤリンl製量的、ビルビン練の5年最高、ベヘニルアルコールC. B速量率、アポガド剤1が洗酵、実施剤1-3の方法で育た美勢度2-D-a-B-グルコシル・L-アスコルビン製物本に運搬制、ビクミンB及び助高剤の減量を、す法に収って知動作所し、これにし、男産ナトリウム1重量等及び、L. 3-プチシングリニール5度最高、カルポキシビニルは1マーの1重量等及び作業別85.5豊重なを加え、ホモゲナイザーにかけ業化し、更に変わの適量を加えて関係機合1及減を製造した。

本品は、日頃け止め、美駅和、色白畑などとして有利に利用できる。 実験制 3-14 クリーム

モノステアモン酸ポリポキシエテレングリコール2重点感。自己現化型モノス テアリン酸ダモマリン5重量点、実施例A-80方法で得た高額度2-ローαーDー グルコシルー5ーアスコルビン強制 X2国量材、液動パラフィン1重量相、トリオ クタン第グロマリル11球量型及び効果所の調査を、放散に関って加熱溶解し、 これに1-現産2回期間、1,3-ブチレングリコール5度最終及び結果水 65要量的 を加え、ホモゲナイザーにかけれ化し、更に審判の調量を加えて液性動台レク リームを製造した。

本品は、3歳け止め、典限界、色白橋などとして資利に利用できる。 [発明の意味]

本文で盗べたごとく、本発明の新型物質αーグリコシルーL-アスコルビン酸は、直動発売住を示さず、表定性に優れ、したも、生体内で容易に加水分解され、L-/スコルビン酸本来の試験化性、生理控証を発揮する。その上、αーグリコシル・L-アスコルビン機は、生体内で生成され、代謝される物質でもあることが利用したことより、その安全性も無めて高い物質である。

また、ローグリコシル・1・アスコルビン酸が1・アメコルビン酸とローグル コシル製化合物とを含有する路線に質転爆弾業を作用させる生化学的手法によ り者器に坐成できることより、経済性に優れ、その工造的崇願も発展である。

要に、この直接最近性を示されい。一グリコンルーレーアスコルビン酸は、安定性、生態器性も充分で、ビタミンO強化剤としてはかりでなく、安定剤、品質 改良剤、抗酸化剤、生理器性制、常外線吸収剤などとして、飲料、加工食品、 物圧物などの飲食物、都受性促進の予防剤、治療剤、異には美肌剤、色白剤な 、乳酸テトリウム8.1電量制、マルト・ス(3)電量像及び実施例4-8の方法で得た 高額度1-9-4-D-ダルコッル-1-アスコルビン酸粉末1電量像を水1.8(3)電 量部に直接し、気法に従って、精製維持してパイコゲンフリーとし、この溶液 を維備したプラスチック者なに250mLずつ発摘して注射相多製力した。

本品は、ビタミンCO制動としてだけでなく、カロリー開始、ミネラル可給剤としても利用され、更には、加水分厚され、抗療化剤として活性療法の協会、 適酸化脂質の生成抑制などの効果を製摂し、増中、四種の許療侵害、同数保証、 更には、ウィルス性廃患、無質性原患、外質性疾患、免疫疾患、アレルギー、 支生、対疾病、白内原、循環深質重、影性無容などの各種疾患の予防剤、抗療 利に有利に利用できる。

與幾例 B-- (1 经背景资제

起品性なーマルトース20単価額、グリシン1.1位量線、ダルタミン酸ナトリウム0.18名数率、食水1.2数类等、クェン酸1数量板、乳酸カルシウム5.4氢量物、 炭酸マグネシウム5.1氢量額、黄熱個A、5の方法で様だなーグリコンルーレーア スコルビン酸含有効水0.1減量率、ダフミン1.01或量等及びリポフラビン0.81重量額からなる能合物を関撃する。

この配き物 24g ずつをうミネートアルミ製小数に充張し、ヒートシールして経管 供給剤を追撃した。

本版管規義預は、一義を約1400万項110mLの水に諮問し、経管方法により集地 、胃、脂などへの様日的火は拒耗日的栄養補給故として有利に采用できる。 沖減約 3-13 所元的

DL - 乳機ナトリウム21世最初、ピルビン酸ナトリウム (1家老師、炭焼料4-1の 方法で各た αーダザコシル・L-アスコルビン酸含者粉末5変量等及びエチノー ル41重量形象、前製水24度最低及び着色料、香料の適量と進合し、常用剤を製 添した。

本稿は、美別商、色色別として好適であり、入俗形の機に100万至10,000倍に を表して利用すればよい。本品は、人称用の森の場合と同様に、鉄原用水、化 性水などに発表して利用することも名利に実施できる。

表施例 B-13 乳液

ポリオキシエチレンベヘニルエーテル0.5家屋加、テトラオシイン酸ポリオキ

ど化粧品など各種組織物に含有せしめて有利に利用できる。従って、本発明の a - グリコシルーレーアスコルビン数は広義な用途を有し、これら余型界に与える工業的製造は極めて大きい。

4. 図面の詳細な最明

図は、本発明のターDーグルコシルーUーアスコルピン線の影外線要収スペクトルBを示す。

特許出顧人

株式会社林原生物化学研究所 代表者 # 晌 舞 (他1名)